

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

*MOMORDICA CHARANTIA* L. EKSTRELERİNİN  
İÇERİĞİNİN VE MELANOMA KANSER HÜCRELERİ  
ÜZERİNE ETKİSİNİN METABOLOMİK  
ÇALIŞMALARLA İNCELENMESİ

Ecz. Duygu ENEŞ

Analitik Kimya Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA

2023



T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***MOMORDICA CHARANTIA* L. EKSTRELERİNİN İÇERİĞİNİN  
VE MELANOMA KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN  
METABOLOMİK ÇALIŞMALARLA İNCELENMESİ**

**Ecz. Duygu ENEŞ**

**Analitik Kimya Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof.Dr. Mustafa ÇELEBİER**

**İKİNCİ DANIŞMAN  
Prof.Dr. A. Ahmet BAŞARAN**

**ANKARA**

**2023**

**MOMORDICA CHARANTIA L. EKSTRELERİNİN İÇERİĞİNİN VE MELANOMA KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN METABOLOMİK ÇALIŞMALARLA İNCELENMESİ**

**Öğrenci: Ecz. Duygu ENEŞ**

**Danışman: Prof.Dr. Mustafa ÇELEBİER**

**İkinci Danışman: Prof.Dr. A. Ahmet BAŞARAN**

Bu tez çalışması 18.08.2023 tarihinde jürimiz tarafından “Analitik Kimya Programı”nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı:** *Prof.Dr. Sacide ALTINÖZ*

*Başkent Üniversitesi*

**Tez Danışmanı:** *Prof.Dr. Mustafa ÇELEBİER*

*Hacettepe Üniversitesi*

**Üye:** *Prof.Dr. İncilay SÜSLÜ*

*Hacettepe Üniversitesi*

**Üye:** *Prof.Dr. Ayşe ERCAN*

*Hacettepe Üniversitesi*

**Üye:** *Prof.Dr. Emirhan NEMUTLU*

*Hacettepe Üniversitesi*

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

*Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN*

**Enstitü Müdürü**



## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. <sup>(1)</sup>
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. <sup>(2)</sup>
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. <sup>(3)</sup>

..... /...../.....

(İmza)

Ecz. Duygu ENEŞ

i1

<sup>i</sup> Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulunun** gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, **tezin yapıldığı kurum** tarafından verilir \*. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, **ilgili kurum ve kuruluşun önerisi** ile **enstitü** veya **fakültenin** uygun görüşü üzerine **üniversite yönetim kurulu** tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir. Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

\* Tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** tarafından karar verilir.

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof.Dr. Mustafa ÇELEBİER danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığımı beyan ederim.

(İmza)  
Ecz. Duygu ENEŞ

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana her zaman destek olan, akademik hayata başlamama büyük katkı sağlayan, tez çalışmalarım boyunca anlayışı, samimiyeti, sabrı ve emeğiyle bana yol gösteren, bilgi birikimi ve öğreticiliğiyle yardımlarını esirgemeyen ve desteğini her zaman üzerimde hissettiğim çok değerli Danışman Hocam Prof. Dr. Sayın Mustafa ÇELEBİER'e,

Bilgisini ve desteğini esirgemeyen, tecrübeleri ve değerli fikirleri ile tezime katkı sağlayan ve meslek hayatımda her türlü desteği sunan Danışman Hocam Prof. Dr. Sayın A. Ahmet BAŞARAN'a,

Yüksek Lisans eğitimim boyunca verdiği destek ve sonsuz anlayışı, değerli bilgileri ve ilgisi ile Anabilim Dalı'nda bana sağlamış olduğu destek için Başkent Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sayın Sacide ALTINÖZ'e,

Bitki ekstraktlarının elde edilmesindeki tüm yardımları ve ilgisi için Dr. Öğr. Üyesi Nadire ÖZENVER'e,

Tez kapsamında hücre kültürü deneyi yapmama imkan sağlayan Prof. Dr. Sayın Erem BİLENSOY'a ve bu süreçte değerli bilgilerini paylaşan ve hücre kültürü deneylerini gerçekleştiren Dr. Öğr. Üyesi Gamze VARAN'a,

Lisans ve Yüksek Lisans eğitimim boyunca teorik ve pratik derslerde öğrettikleri değerli bilgiler için Analitik Kimya Anabilim Dalı'nın saygıdeğer öğretim üyelerine,

Cihaz kullanımı sürecindeki tüm yardım ve destekleri için Uzm. Kim. Ozan KAPLAN'a ve Biyo. Öğrt. Bilge Başak FİDAN'a

Tezimin her aşamasında desteğini eksik etmeyen, katkılarını ve emeklerini hiçbir zaman unutamayacağım canım çalışma arkadaşım Ecz. Nergiz YILMAZ'a,

Yardımları için Kim. Müh. Büşra UÇAR'a,

Her zaman yanımda olan ve desteklerini hep yanımda hissettiren sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Eneş, D., *Momordica charantia* L. Ekstrelerinin İçeriğinin ve Melanoma Kanser Hücreleri Üzerine Etkisinin Metabolomik Çalışmalarla İncelenmesi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2023.** Bu tez çalışmasında, yara bakımında kullanılan *Momordica charantia* L. (kudret narı) Sıvı Kromatografisi/Kuadrapol Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometrisi (LC/Q-TOF MS) temeline dayanan metabolomik çalışmalarla metabolom düzeyinde incelenmiş ve de bu bitkinin B16-F10 melanom hücre hattı üzerinde *in vitro* etkisi LC/Q-TOF MS ile araştırılmıştır. Bu amaçla *Momordica charantia* L. bitkisinin olgunlaşmış meyve ve tohumunun metanol ekstraktları hazırlanmıştır. Elde edilen ekstraktlar LC/Q-TOF MS cihazı kullanılarak C18 kolon ile gradiyent elüsyon programı kullanılarak analiz edilmiştir. Elde edilen ham veriler çeşitli veri analiz yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Tespit edilen piklerin normalizasyonu yapılmıştır ve meyve ve tohum arasındaki fark incelenmiştir. Araştırma sonucunda meyve ve tohum arasında metabolom düzeyinde farklılık olduğu görülmüştür. Ayrıca, *Momordica charantia* L.'nin cilt kanserinde etkinliğini incelemek amacıyla meyve ve tohum ekstraktları B16-F10 melanom hücre hatlarına uygulanmıştır. Kontrol grubu, tohum ve meyve grupları arasındaki farkları gözlemleyebilmek için LC/Q-TOF MS cihazı kullanılarak analiz yapılmıştır. Kontrol, meyve ve tohum grupları arasında ekstraktlarının hücre hatlarına inkübasyonu sonucu 48 saat ve 72 saat inkübasyonunun sonucundaki farklar ayrı ayrı incelenmiştir. Sonuç olarak, meyve (hücrede) ve tohum (hücrede) ekstraktlarının metabolitlerinin hem 48 saat inkübasyon sonrası için hem de 72 saat inkübasyon sonrası için kontrole göre farklı olduğu görülmüştür. Bu bitkinin yara bakımında kullanılmak üzere umut vaat edici olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Sıvı kromatografisi, kütle spektrometrisi, yara bakım, biyobelirteç, metabolom ve fitoterapötik

## ABSTRACT

**Enes, D., Evaluation of the Content of *Momordica charantia* L. Extracts and the Effect on Melanoma Cancer Cells by Metabolomic Studies, Hacettepe University Graduate of School Health Sciences Analytical Chemistry Program Master's Thesis, Ankara, 2023.** In this thesis study, *Momordica charantia* L. (bitter gourd) used in wound healing was investigated at the metabolome level with metabolomic studies based on Liquid Chromatography/Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry (LC/Q-TOF MS) and the *in vitro* effect of this plant on B16-F10 melanoma cell line was investigated by LC/Q-TOF MS. For this purpose, methanol extracts of the ripe fruit and seed of *Momordica charantia* L. were prepared. The extracts were analyzed using a gradient elution program with a C18 column using an LC/Q-TOF MS instrument. The raw data obtained were analyzed using various data analysis methods. The detected peaks were normalized and the difference between the extracts of fruit and seed was examined. As a result of the research, it was seen that there was a difference in the metabolome level between fruit and seed. In addition, fruit and seed extracts were applied to B16F-10 melanoma cell lines to examine the efficacy of *Momordica charantia* L. in skin cancer. In order to observe the differences between the groups of control, fruit and seed, analysis was performed using LC/Q-TOF MS device. The differences between the control group and the results of the incubation of fruit and seed extracts in cell lines for 48 hours and 72 hours incubation were examined separately. As a result, it was observed that the metabolites of fruit (in cell) and seed (in cell) extracts were different from the control both for 48 hours incubation and after 72 hours incubation. It was concluded that this herb is promising for use in wound healing.

**Keywords:** Liquid chromatography, mass spectrometry, wound healing, biomarker, metabolome and phytotherapeutic

## İÇİNDEKİLER

<b>ONAY SAYFASI</b>	iii
<b>YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI</b>	iv
<b>ETİK BEYAN</b>	v
<b>TEŞEKKÜR</b>	vi
<b>ÖZET</b>	vii
<b>ABSTRACT</b>	viii
<b>İÇİNDEKİLER</b>	ix
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b>	xii
<b>ŞEKİLLER</b>	xiv
<b>TABLolar</b>	xvii
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1. <i>Momordica charantia</i> Linn. (Kudret Narı, KN) ve Genel Özellikleri	3
2.1.1. Yan Etkileri	3
2.1.2. Fizikokimyasal Özellikler	4
2.1.3. <i>Momordica charantia</i> L.'nin Yara İyileştirici Etkileri	5
2.1.4. <i>Momordica charantia</i> L.'nin Antikanser Etkileri	6
2.1.5. <i>Momordica charantia</i> L. Bitkisinde Bulunan Yara İyileşmesi ve Cilt Kanserinde Etkin Bileşer	7
2.2. Deri ve Yapısı	12
2.3. Yaraların Patolojisi	13
2.4. Yara İyileşmesi Aşamaları	14
2.4.1. Vasküler Tepki: Hemostaz ve Pıhtılaşma	15
2.4.2. Hücresel Yanıt: Enflamasyon	16
2.4.3. Proliferasyon ve Onarım	18
2.4.4. Yeniden Olgunlaşma	19

2.5. Yaraların Sınıflandırılması	20
2.5.1. Dış Ortam Maruziyetine Göre Yaralar	21
2.5.2. Derinliğine Göre Yaralar	21
2.5.3. Yanıklar	22
2.5.4. Yara İyileşme Sürecine Göre Yaralar	22
2.5.5. Kontaminasyon ve Postoperatif Enfeksiyon Riskine Göre Yaralar	23
2.6. Yara İyileşmesinin Türleri	24
2.7. Cilt Kanseri	25
2.7.1. Cilt Kanseri Risk Faktörleri	26
2.7.2 Cilt Kanseri Türleri	27
2.8. Melanom	28
2.8.1. Melanom Patogenezi	29
2.8.2. Melanom Epidemiyolojisi	31
2.8.3. Melanom Tedavisi	33
2.9. Yara İyileşmesi ve Kansere İlişkisi	36
2.10. Yara İyileşmesinde ve Cilt Kanserinde Kullanılan Ürünler	37
2.10.1 Yara İyileşmesinde Kullanılan Ürünler	37
2.10.2 Melanomda Kullanılan Ürünler	42
2.11. Metabolit, Metabolom ve Metabolomik Kavramları	48
2.12. Metabolomik Çalışmalarda Kullanılan Analitik Yöntemler	49
2.13. Sıvı Kromatografisi - Kütle Spektrometrisi (LC-MS)	49
2.13.1. Sıvı Kromatografisi	51
2.13.2. Kütle Spektroskopisi	53
2.14. Kuadrapol Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi	54
2.15. Metabolomik Analiz Süreci	55
2.16. Metabolomik Çalışmalarda Veri İşleme	57

2.17. Metabolomik Çalışmalarda Kullanılan Yazılım ve Veri Bankaları	58
2.18. Metabolomikte İstatiksel Analiz	59
2.19. Bitki Metabolomiği	59
2.20. Tedaviye Cevap Sürecinin İzlenmesinde Metabolomik	60
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	62
3.1. <i>Momordica charantia</i> L. Bitki Materyali	62
3.2. <i>Momordica charantia</i> L. Ekstraktlarının Hazırlanışı	62
3.3. Hücre Kültürü Çalışmaları	64
3.4. LC/Q-TOF MS Analizlerinde Uygulanan Metodoloji	68
3.4.1. <i>Momordica charantia</i> L.'nin Analizi	68
3.4.2. Melanom Hücre Hattının Analizi	72
3.5. Veri İşleme	76
<b>4. BULGULAR</b>	77
4.1. <i>Momordica charantia</i> L.'nin LC/Q-TOF MS Analizlerine Ait Bulgular	77
4.2. Melanom Hücre Hattı LC/ Q-TOF MS Analizlerine Ait Bulgular	82
<b>5. TARTIŞMA</b>	102
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	114
<b>7. KAYNAKLAR</b>	116
<b>8. EKLER</b>	
<b>EK-1: IPO Optimizasyon Kodu ve Optimizasyon Parametreleri</b>	
<b>EK-2: Bitki Metabolomiğinde Eşleşme Sağlanan Metabolitlerin HMDB (İnsan Metabolom Veribankası) Bilgisi</b>	
<b>EK-3: Hücre Kültürü Metabolomiğinde Eşleşme Sağlanan Metabolitlerin HMDB (İnsan Metabolom Veribankası) Bilgisi</b>	
<b>EK-4: Turnitin Ekran Görüntüsü</b>	
<b>EK-5: Turnitin Dijital Makbuz</b>	
<b>9 ÖZGEÇMİŞ</b>	



## SİMGELER VE KISALTMALAR

AMPK	Aktive edilmiş protein kinaz
ABF	Analiz temel dosyası
Anti-PD-1	Programlanmış ölüm-1
BCC	Bazal hücreli karsinom
CDK	Sikline Bağımlı Kinaz
CDKN2A	Sikline Bağımlı Kinaz İnhibitörü 2A
CE	Kapiler Elektroforez
COX	Siklooksijenaz
CTLA-4	Sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen 4
dak	dakika
DIA	Veriden bağımsız edinim
DK	Değişim katsayısı
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ECM	Ekstrasellüler matris
EMA	Avrupa İlaç Ajansı
ERK	Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz
ESI	Elektrosprey iyon kaynağı
FBS	Fetal sığır serumu
FDA	Gıda ve İlaç İdaresi
GC	Gaz Kromatografisi
GTP	Guanozin trifosfat
HBF	Hepatosit büyüme faktörü
HMDB	İnsan Metabolom Veritabanı
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
IC <sub>50</sub>	Yarı maksimum inhibitör derişimi
IFN	İnterferon

IL	İnterlökin
KN	Kudret narı
LC	Sıvı kromatografisi
M	Meyve
m/z	Kütle/yük oranı
MAPK	Mitojenle etkinleşen protein kinaz
MFC	Miktar değişim oranı
MGSA	Melanom büyüme uyarıcı aktivite
MS	Kütle Spektrometrisi
NMR	Nükleer manyetik rezonans
NO	Nitrik oksit
PBS	Fosfat tamponlu salin
PC	Temel bileşen
PCA	Temel bileşen analizi
PI3K	Fosfatidilinositol 3-kinaz
PLS-DA	Kısmi en küçük kareler ayırma analizi
QTOF-MS	Kuadrupol Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometrisi
Rb	Retinoblastoma
RF	Radyofrekansı
T	Tohum
TGF	Dönüştürücü büyüme faktörü
UPLC	Ultra performanslı sıvı kromatografisi
UV	Ultraviyole
WST-1	Suda çözünür tetrazolyum tuzu

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
1.1. Başlıca omik bilimler.	2
2.1. Olgunlaşmış meyve ve yaprak.	3
2.2. 19-(10 $\beta$ )-abeo--10 $\alpha$ -lanost- 5--ene kimyasal yapısı.	8
2.3. Kukurbitasin B'nin kimyasal yapısı.	9
2.4. Kukurbitasin E'nin kimyasal yapısı.	10
2.5. Derinin katmanları.	13
2.6. Yara iyileşmesi aşamaları.	15
2.7. Melanomu tanımlamada kullanılan ABCDE sistemi.	29
2.8. 2020'de melanom insidans oranına ait orijinal görüntü (Dünya), (Erkek ve Kadın, yaş; 0-85+) (133)	31
2.9. 2020'de melanom ölüm oranına ait orijinal görüntü (Dünya), (Erkek ve Kadın, yaş; 0-85+) (133).	31
2.10. Dünyada 2020'den 2040'a kadar tahmini yeni melanom vaka sayısı (133).	32
2.11. Türkiye'de 2020'den 2040'a kadar tahmini yeni melanom vaka sayısı (133).	33
2.12. Melanomda kullanılan sentetik ürünler (129).	43
2.13. Metabolomik çalışmalarda kullanılan analitik yöntemler (228).	49
2.14. LC-MS cihazı.	50
2.15. HPLC şematik gösterimi.	52
2.16. MS'in şematik gösterimi.	53
2.17. QTOF'un şematik diyagramı.	55
2.18. Metabolomik analiz süreci.	55
3.1. Olgunlaşmış meyve (1), olgunlaşmış meyve ve tohum (2), kırmızı zarlı tohum (3), olgunlaşmış tohum (4).	62
3.2. <i>Momordica charantia</i> L. ekstraktlarının hazırlanması.	63
3.3. <i>Momordica charantia</i> L.'nin sulu ekstraktları.	64
3.4. WST-1 Testi ile hücre canlılığının belirlenmesi.	66
4.1. Meyve (a) ve tohum (b) için ekstraktlarının temel pik kromatogramları.	77
4.2. Tohum ve meyvenin metabolom düzeyindeki istatistiksel farkını gösteren PCA grafiği (XCMS ve MSDial için).	78

4.3. Tohum ve meyve metabolomiği arasındaki Volcano plot grafiği (XCMS ve MSDial için).	79
4.4. Bitki metabolomik veri analizinde kullanılan XCMS ve MSDial yazılımları sonucu pik sayıları.	80
4.5. Derişime karşı hücre canlılığı (%) değişimleri (24 saat).	82
4.6. Derişime karşı hücre canlılığı (%) değişimleri (48 saat).	83
4.7. Derişime karşı hücre canlılığı (%) değişimleri (72 saat).	83
4.8. Kontrol (48 saat) için temel pik kromatogramları.	84
4.9. Meyve (48 saat) için temel pik kromatogramları.	84
4.10. Meyve/Kontrol için veri analizi sonucu pik sayıları (48 Saat).	85
4.11. Tohum (48 saat) için temel pik kromatogramları.	87
4.12. Tohum/Kontrol için veri analizi sonucu pik sayıları (48 Saat).	87
4.13. Kontrol/meyve ve kontrol/tohum arasında istatistiksel olarak farklı ve en az 1.5 kat değişime uğramış pik sayıları (48 saat).	89
4.14. Metabolom düzeyinde kontrol, meyve ve tohumun istatistiksel farkını gösteren PCA grafiği (48 saat).	89
4.15. Kontrol (72 saat) için temel pik kromatogramları.	90
4.16. Meyve (72 saat) için pik temel pik kromatogramları.	90
4.17. Meyve/Kontrol için veri analizi sonucu pik sayıları (72 Saat).	91
4.18. Tohum (72 saat) için temel pik kromatogramları.	94
4.19. Tohum/Kontrol için veri analizi sonucu pik sayıları (72 Saat).	94
4.20. Kontrol/meyve ve kontrol/tohum arasında istatistiksel olarak farklı ve en az 1.5 kat değişime uğramış pik sayıları (72 saat).	98
4.21. Metabolom düzeyinde kontrol, meyve ve tohumun istatistiksel farkını gösteren PCA grafiği (72 saat).	98
4.22. Kontrol/meyve ve kontrol/tohum arasında MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolit sayısı (48 saat).	99
4.23. Kontrol/meyve ve kontrol/tohum arasında MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolit sayısı (72 saat).	99

<b>4.24.</b> Kontrol (48 saat, kırmızı) ve kontrol (72 saat, mavi) için temel pik kromatogramları.	100
<b>4.25.</b> Meyve (48 saat, mavi) ve meyve (72 saat, yeşil) için temel pik kromatogramları.	100
<b>4.26.</b> Tohum (48 saat, siyah) ve tohum (72 saat, yeşil) için temel pik kromatogramları.	101

## TABLOLAR

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
2.1. <i>Momordica charantia</i> L.'nin major biyoaktif bileşenleri.	4
2.2. <i>Momordica charantia</i> L.'nin antiinflamatuvar ve antikanser etki mekanizması.	7
2.3. Kanser hücre hatlarında kukurbitasin B ve küçük moleküllü ilaçların sinerjik etkisi.	9
2.4. <i>Momordica charantia</i> L.'nin üç popülasyonunda bulunan triterpenoidlerin içeriği.	11
2.5. <i>Momordica charantia</i> L.'nin kurutulmuş meyvesindeki momordikozid miktarları.	12
2.6. Yara iyileşmesi aşamaları.	14
2.7. Yaraların sınıflandırılması.	20
2.8. Yara tanımlanmasındaki renk sistemi [105].	23
2.9. Cilt kanserini etkileyen genetik ve çevresel faktörler.	26
2.10. Cilt kanseri türleri.	27
2.11. 2020-2040 yılları arasında tüm dünyadaki tahmini vaka sayıları (DSÖ) [133].	32
2.12. 2020-2040 yılları arasında Türkiye'deki tahmini vaka sayıları (DSÖ) [133].	33
2.13. Yara iyileşmesinde kullanılan ürünler.	41
3.1. <i>Momordica charantia</i> L. ekstraktlarının hazırlanmasında kullanılan kimyasallar.	64
3.2. <i>Momordica charantia</i> L. ekstraktlarının hazırlanmasında kullanılan cihaz ve sarf malzemeler.	64
3.3. Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan biyolojik materyaller.	66
3.4. Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan kimyasallar.	67
3.5. Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan cihaz ve sarf malzemeler.	67
3.6. Bitki metabolomiğin için LC/Q-TOF MS parametreleri.	69
3.7. Bitki metabolomiği için gradient elüsyon programı.	69
3.8. Meyve ve tohum ekstraktlarının enjeksiyonu için hazırlanan çözeltiler.	69
3.9. <i>Momordica charantia</i> L.'nin analizi kapsamında kullanılan kimyasallar.	70
3.10. <i>Momordica charantia</i> L.'nin analizi kapsamında kullanılan cihaz ve sarf malzemeler.	70
3.11. Hücre kültürü metabolomiği için LC/Q-TOF MS parametreleri.	73

3.12. Hücre kültürü metabolomiği için gradient elüsyon programı.	73
3.13. Melanom hücre hattına ekimi için hazırlanan çözeltiler.	73
3.14. Melanom hücre hattı analizi kapsamında kullanılan kimyasallar.	74
3.15. Melanom hücre hattı analizi kapsamında kullanılan cihaz ve sarf malzemeler.	75
4.1. Bitki metabolomiği sonucu tohum ve meyvede bulunan metabolitler (XCMS).	80
4.2. Bitki metabolomiği sonucu tohum ve meyvede bulunan metabolitler (MSDial).	81
4.3. MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolitler (48 saat, Meyve/Kontrol).	86
4.4. MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolitler (48 saat, Tohum/Kontrol).	88
4.5. MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolitler (72 saat, Meyve/Kontrol).	92
4.6. MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolitler (72 saat, Tohum/Kontrol).	95
4.7. MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolitler (72 saat, Meyve/Kontrol ve Tohum/Kontrol ortak metabolitle:	96

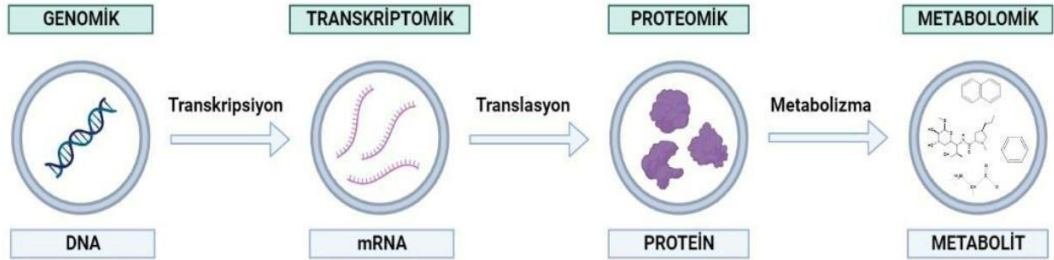
## 1. GİRİŞ

Yüzyıllar boyunca bitkiler, birçok faydalı özelliğinden dolayı insanların günlük yaşamında gıda ve ilaç olarak önemli bir rol oynamıştır. Çeşitli hastalıklarda kullanılan bitkiler, doğal ilaç olarak önem taşımaktadır. Geleneksel halk ilaçları ile tedavi, özellikle modern sağlık hizmetlerine erişimi olmayanlar tarafından hala kullanılmaya devam etmektedir. Tıbbi bitkiler, modern ilaçların önemli bir kaynağıdır ve Dünya çapında reçete edilen ilaçların yaklaşık %25'i bitkisel kaynaklıdır (1). Dünya çapında geleneksel tıbbi bitki kullanımına dayalı yeni ilaç keşifleri için büyük bir alan vardır (2). Bitkiler (50.000'den fazla tür), farmasötik ve kozmetik ürünlerde kullanılmaktadır (3). Bunların dışında gıda takviyeleri, bitki çayları olarak ve sağlık ve kişisel bakımla ilgili diğer çeşitli amaçlar için satılan birçok ilgili bitkisel ürün vardır (4). Dünya Sağlık Örgütüne (DSÖ) göre, gelişmekte olan ülkelerin nüfusunun yaklaşık %80'i geleneksel bitkisel ilaçlar kullanılmaktadır. Ilıman kuşakta yer alan ve zengin bitki örtüsüne sahip olan Türkiye'de yaklaşık 12.000 bitki türü ve 3000'den fazla endemik bitki türü bulunmaktadır, tıbbi amaçlı kullanılan bitki sayısının 500 civarında olduğu tahmin edilmektedir ve son yıllarda tıbbi amaçlı kullanılan bitkilere verilen önem artmıştır (5). Türkiyede tıbbi bitkiler, geleneksel kullanımlar dışında bitkisel tıbbi ürün olarak satılacaksa ruhsatlandırılmaktadır. Tarım ve Orman Bakanlığı'ndan ruhsatlı ürünler genellikle besin takviyesi olarak çıkmaktadır ve endikasyon dahil değilken Sağlık Bakanlığı izinlerinde endikasyon dahildir (6). Özetle, bitkilerin önemli bir terapötik veya iyileştirmede yardımcı kaynak olduğu bilinmektedir. Çeşitli hastalıklara alternatif bir tedavi olarak kullanılmakta ve tüm dünyada kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (7, 8). Ayrıca bitkilerden izole edilen aktif bileşikler, ilaç keşfine katkı sağlamaktadır (9).

Omik bilimler, genomik, transkriptomik, proteomik veya metabolomik gibi çalışma alanlarını ifade eder (10). Genlerin (genomik), mRNA'nın (transkriptomik), proteinlerin (proteomik) ve metabolitlerin (metabolomik) kapsamlı analizi hedeflenmektedir (11). Genomik, genetik bilginin kapsamlı bir de tanımlanmasını; transkriptomik bir hücre veya organizma içindeki mRNA'nın incelenmesini; proteomik, proteinlerin özellikle yapılarının ve işlevlerinin tanımlanmasını ve



metabolomik, bir hücre veya organizmanın tüm düşük moleküler ağırlıklı metabolitlerinin ve bunların biyolojik sistemlerdeki dinamiklerinin niteliksel ve niceliksel analizini amaçlar (12, 13). Şekil 1.1.'de başlıca omik bilimler verilmiştir.



**Şekil 1.1.** Başlıca omik bilimler.

Son zamanlarda, LC ile birleştirilmiş Q-TOF MS, tam kütle aralığı algılama hassasiyeti, veri toplama hızı yüksek ve kütle doğruluğundan yararlanarak bilgi açısından zengin veriler sağlayabildiği için metabolit tespiti ve tanımlaması için önemli bir analiz yöntemi haline geldi (14).

Bu tez kapsamında, yara iyileştirici özelliği bulunan ve piyasada satılan bazı ilaçların, tıbbi cihazların hatta yara oluşması sonucu bölgedeki kozmetik deformasyonu giderici bazı ürünlerin de bitkisel içeriğinden yola çıkarak, halk arasında yara iyileştirici olarak kullanılan *Momordica charantia* L. bitkisinin yara iyileştirici ve antikanser aktivitesi moleküler düzeyde incelenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. *Momordica charantia* Linn. (Kudret Narı, KN) ve Genel Özellikleri

*Momordica charantia* Linn. genellikle acı kavun veya acı kabak olarak bilinir ve Cucurbitaceae familyasından olan tropikal ve subtropikal tırmanıcı bir bitkidir. *Momordica* Latince adı "ısırmak" anlamına gelir (yaprakların ısırılmış gibi görünen pürüzlü kenarlarına atıfta bulunur) (15). *Momordica charantia* L.'nin yaygın isimlerine acı kavun, papilla, acı kabak, salsamino, corrilá or karela, hanzal, assorossie, ampalaya, nigauri or goya, pare, kho gua, sora, balsam apple, pear or balsamina örnek olarak verilebilir (16). *Momordica* L. cinsi, Asya'ya özgüdür ve Amazon, Doğu Afrika, Karayipler ve Güney Amerika'da yetiştirilmektedir (17). Türkiye'de, Mayıs ayında daha çok Yalova, Bursa çevresi ve Ege bölgesinde tohumdan yetiştirilir ve olgun meyveler Ağustos ayında hasat edilir (18). Olgunluğu meyvenin sertliğine, kabuğunun rengine ve çekirdek tanesinin rengine göre tanımlanabilir. Tohum tanesinin rengi beyaz-sarımsıdan sarımsı-turuncuya değişir ve KN olgunlaştığında kırmızıya döner. Meyve yeşil, soluk yeşil ve koyu yeşil rengindedir. Yeşil renkli ise olgunlaşmamış, turuncu renkli ise olgunlaşmıştır (19). Şekil 2.1.'de olgunlaşmış meyve ve yaprak görülmektedir.



Şekil 2.1. Olgunlaşmış meyve ve yaprak.

#### 2.1.1. Yan Etkileri

Bir vaka raporu, diyabetik olmayan iki genç çocuğa KN çayı verildikten sonra hipoglisemik koma ve nöbet olduğunu göstermektedir (20). KN tohumları ve

meyvelerin dış kabuğu, bağırsak duvarında protein sentezini engelleyen toksik bir lektin içerir (21). Hem kemirgenlerde hem de primatlarda yapılan çalışmalar, bitki özünün abortif etkiye neden olduğunu göstermektedir. Erkeklerde, *Momordica charantia* L. tohum ekstraktları, spermatogenez için gerekli olan hipofiz gonadotropularının mevcudiyetinin azaldığına dair dolaylı kanıtlar göstermiştir (22). KN tohumları yenildikten sonra favizm geliştirme riski bulunmaktadır (23). KN meyve suyu ve tohum ekstraktının oral yoldan verilmesinden sonra hayvanlarda  $\gamma$ -glutamiltransferaz ve alkalik fosfatazda önemli artışlar gözlenmiştir. Ancak bu artışlar karaciğerdeki önemli histopatolojik değişikliklerle ilişkilendirilmemiştir (24).

### 2.1.2. Fizikokimyasal Özellikler

*Momordica charantia* L.'nin major biyoaktif bileşenleri polisakkaritler, peptitler, proteinler, lipidler, terpenoidler, saponinler, fenolikler ve sterollerdir (Tablo 2.1.) (25).

**Tablo 2.1.** *Momordica charantia* L.'nin major biyoaktif bileşenleri.

<b>Polisakkaritler</b>	Galaktoz, arabinoz , ramnoz, ksiloz, glukoz, mannoz, glukuronik asit, galakturonik asit	(25, 26)
<b>Peptitler ve proteinler</b>	Majör doku uygunluk kompleksi-1 (MCH-1) ve MCH-2, MC6, p-insülin, Lektin, MAP30, $\alpha$ -momorkarin ( $\alpha$ -MMC), $\beta$ -momorkarin ( $\beta$ -MMC), $\gamma$ -momorkarin, anti-HIV protein (MAP30), polipeptit-P	(25, 27)
<b>Lipidler</b>	Germakren, trans-nerolidol apiol ve cis-dihidrokarveol, alfaeostearik asit	(28)
<b>Terpenoidler ve Saponinler</b>	Şarantin, goyaglikozitler, goyasaponinler, momordikozit, momordisin, kuguaglikosit, kugua saponinler, kukurbitasin	(25, 28, 29)
<b>Fenolikler</b>	Kateşin ve epikateşin, kinik asit	(25)

**Tablo 2.1.** (Devam) *Momordica charantia* L.'nin major biyoaktif bişenlenleri.

<b>Fenolik asitler</b>	Gallik asit, gentisik asit, protokateşik asit, vanilik asit, klorojenik asit, siringik asit, p-kumarik asit, benzoik asit ve o-kumarik asit, trans sinnamik asit	(25)
<b>Uçucu yağlar</b>	$\alpha$ -pinen , $\beta$ -pinen, octanal, 1,8-sineol, $\beta$ -felandren, C-dihidrokarveol transdihidrokarveol, karvon, (E)-anetol, safrol, metil-eugenol, germakren D, $\beta$ -selinen, $\alpha$ -selinen, miristisin, $\delta$ -kadinen, transnerolidol, spatulenol, sedrol, $\beta$ -bisabolol, apiol	(30)
<b>Steroller ve Yağ asitleri</b>	C10-0 (Kaprik asit), C12-0 (Laurik asit), C16-0 (Palmitik asit), C18-0 (Stearik asit), C18-1 (Oleik asit), C18-2 (Linoleik asit), C20-0 (Araşidik asit), $\alpha$ -eleostearik asit, sitosterol, kompesterol, daukosrerol ve momordenol, obtusifoliol, sikloökalenol, 4a-metilmosterol, lofenol ve desmetilsterol, spinasterol	(30, 31)

Halk arasında *Momordica charantia* L. antidiyabetik, antikanser, antiobezite, anksiyolitik, antidepresan, antiinflamatuvar, antiviral, antigenotoksik, yara iyileştirici, antioksidan, hepatoprotektif, antibakteriyel, antifungal, abortif ve gebelik önleyici, antiülser, immünomodülatör, hipotansif ve antiprotrombin, antihelmintik, antibiyotik, antimitojenik, antilösemik, antioksidan, antiülser, afrodisyak, kanama durdurucu, idrar söktürücü ve tonik olarak kullanılmaktadır (32, 33).

### 2.1.3. *Momordica charantia* L.'nin Yara İyileştirici Etkileri

*Momordica charantia* L.'nin meyvelerinin tozundan elde edilen merhemi, yara büzülmesi, yara kapanma süresi, epitelizasyon süresi, yaranın gerilmesi ve yara bölgesinde doku rejenerasyonunda kontrol grubuna kıyasla daha etkili olduğu görülmüştür. *Momordica charantia* L. yara iyileşme hızını olumlu yönde etkiler, yaranın kasılmasını artırır, yaranın kapanma süresini kısaltır, epitelizasyon sürecini hızlandırır ve yaranın gerginliğini artırır (34).

*Momordica charantia* L. yara iyileştirici özelliklere sahiptir. Yara modeli üzerinde yapılan bir çalışmada KN merheminin bir eksizyon ve insizyon üzerinde olumlu etkileri olduğu görülmüştür. Başka bir çalışmada, KN ekstraktının, farklı hücre tiplerinde hepatosit büyüme faktörü (HGF) üretimini ve insan dermal fibroblastlarının çoğalmasını önemli ölçüde uyardığı bildirilmiştir (19).

Antiinflamatuvar etki; *Momordica charantia* L. meyve özleri, proliferasyonu ve lenfositlerin aktivitesini ve ayrıca indüklenmiş IL-7 sekresyonunu büyük ölçüde baskılar (35).

#### **2.1.4. *Momordica charantia* L'nin Antikanser Etkileri**

Birkaç *in vivo* çalışma, KN bitkisinin tamamının antitümör aktivitesi göstermiştir (36). KN ve KN ekstraktları kanser ve tümör oluşumunu engellemektedir. Hem viral hem de konak hücre RNA'sı ve protein sentezi üzerinde inhibitör etkisi vardır (31).

KN meyvesinin su ekstraktı, meyve ve yaprağın metanol ekstraktı, meyveden kukurbitan tipi triterpenler cilt kanserini önleme ve tedavisinde etkindir (37).

*Momordica charantia* L. ile çeşitli ön çalışmalar (*in vitro* ve *in vivo*) ve MAP 30 dahil olmak üzere çeşitli saflaştırılmış fraksiyonu, lenfoid lösemi, lenfoma, koryokarsinom, melanom, meme kanseri, cilt tümörü, prostat kanseri, dil ve gırtlak skuamöz karsinomu, insan mesane karsinomları ve Hodgkin hastalığına karşı antikanser aktivite göstermiştir (38).

İsviçre albino fareleri; melanom fareleri üzerinde yapılan çalışmada, *Momordica charantia* L.'nin meyve, meyve kabuğu, pulp(meyve etli kısmı), yaprak, tohumundan elde edilen ekstrakttaki kukurbitan tipi triterpen glikozitlerin cilt kanseri üzerinde etkili olduğu görüşmüştür (35).

*Momordica charantia* L. meyve ve yaprak özleri ayrıca melanom farelerinde (melanom hücre hattı implante edilmiş C57BL hibrit fareler), İsviçre albino farelerinde benzo-(a)-piren kaynaklı ön mide tümör oluşumunda ve cilt tümörlerinde kanser önleyici etki göstermiştir (35).

Tablo 2.2.'de *Momordica charantia* L.'nin antiinflamatuvar ve antikanser etki mekanizması görülmektedir (39).

**Tablo 2.2.** *Momordica charantia* L.'nin antiinflamatuvar ve antikanser etki mekanizması.

Etki	Mekanizma
<b>Antiinflamatuvar</b>	↑TGF-β, IL-10, IFN-γ ↓TGF-α, IL-6, IL-7, NF-κB, IL-1 β, NO, PGE <sub>2</sub>
<b>Antikanser</b>	↑Apoptoz, ↑otofaji, ↑AMPK aktivasyon ↓Proliferasyon, ↓Akt, ↓ERK1/2, ↓protein sentezi

TGF-β, Dönüştürücü büyüme faktörü beta; ERK, hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar; IL, interlökin; NF-κB, Aktifleştirilmiş B hücrelerinin nükleer faktör kappa-hafif zincir güçlendiricisi; NO, Nitrik oksit; TNF-α, Tümör nekroz faktörü-alfa; IFN-γ, İnterferon gamma; PGE<sub>2</sub>, Prostaglandin E2; AMPK, Aktive edilmiş protein kinaz; AKT, Aktive olan protein kinaz; ERK1/2, Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz.

### 2.1.5. *Momordica charantia* L. Bitkisinde Bulunan Yara İyileşmesi ve Cilt Kanserinde Etkin Bileşenler

#### *Triterpen Glikozitler*

Saponin maddeleri, triterpenoidal saponinler (örn., kukurbitasin tipi, oleanan tipi, ursan tipi) ve steroidal saponinler içeren çeşitli bitkilerde yaygın olarak bulunan bileşenlerdir (25).

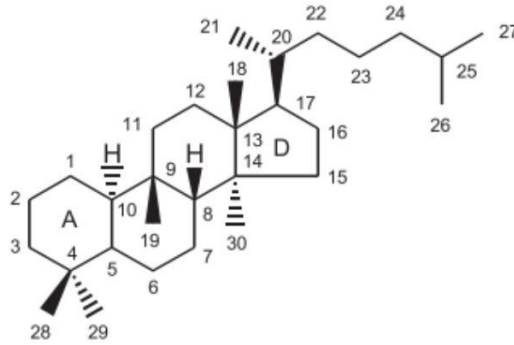
*Momordica charantia* L.'da, oleanan ve kukurbitan tipi triterpenoidler olarak tanınan iki saponin sınıfını içeren çeşitli biyoaktif bileşikler bulunur (28). Triterpenoid glikozitleri, triterpenoid saponinlerdir (40). Kukurbitan tipi triterpen glikozitler ve kukurbitan tipi momordikozidler meyvedeki biyoaktif bileşenlerdir (35). Kukurbitan tipi triterpen glikozitler ve kukurbitan tipi momordikozidler KN'nın meyvelerindeki biyoaktif bileşenlerdir (35).

Özellikle yoğun acı bir tada sahip olan kukurbitasin, *Momordica charantia* L.'da bol miktarda bulunur. 18'den fazla kukurbitasin türü vardır ve bunlar arasında kukurbitasin B tipik bir bileşendir (41).

#### *Kukurbitasin*

Cucurbitaceae ve diğer birkaç bitki familyasının üyelerinde bulunan yapısal olarak çeşitli tetrasiklik triterpenlerdir. Olgun bitkilerin meyvelerinde ve köklerinde bulunabilirler. Kukurbitasinlerin üretildiği meyvelerde en yüksek derişime olgunlukta ulaşılır. Tohumlar genellikle çok düşük derişimde kukurbitasin içerir. Tüm kukurbitasinler, temel bir 19-(10→9β)-abeo--10α-lanost- 5--ene halka iskeleti

(kukurbitan) içerir (42, 43). Temel kukurbitasin halka iskeleti Şekil 2.2.'de görülmektedir (44). Kukurbitasin türleri arasında, kukurbitasin B, D, E, I ve türevlerinin, güçlü antikanser aktiviteleri görülmektedir. Ayrıca, kukurbitasin F, O, P, Q ve bunların türevlerinin orta düzeyde antikanser aktiviteleri olduğu bilinmektedir (45).

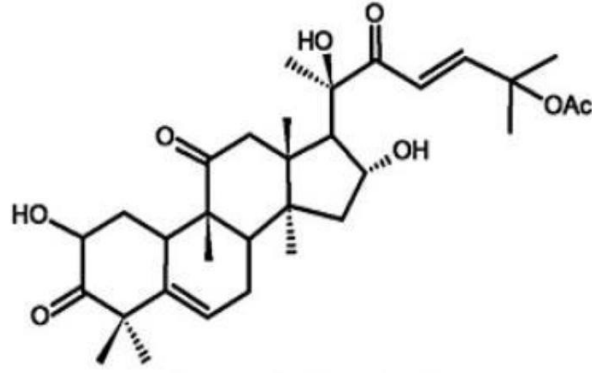


**Şekil 2.2.** 19-(10→9β)-abeo--10α-lanost-5-ene kimyasal yapısı.

Anti-inflamasyon aktiviteleri göz önüne alındığında, lenfositlerde ve makrofajlarda tümör nekroz faktörü alfa ekspresyonunun inhibisyonunu sağlamakta ve nükleer faktör-kappa-B 'nin aktivitesini engellemektedir. Ayrıca, kukurbitasinler, COX2 aktivitesini inhibe edebilir ve indüklenbilir nitrik oksit sentaz yoluyla proinflamasyon araçlarının üretimini inhibe edebilir (46).

### ***Kukurbitasin B***

Kukurbitasin B, çeşitli biyolojik aktiviteler sergileyen, yaygın olarak bulunan tetrasiklik triterpenoid bileşiktir. Kukurbitasin B'nin kimyasal yapısı Şekil 2.3.'de görülmektedir. Kukurbitasin B ( $C_{32}H_{46}O_8$ ), 558.7 g/mol moleküler ağırlığa sahiptir. Antifungal, antibakteriyel, antipiretik, anti-inflamatuvar ve antikanser, hepatoküratif ve hepatoprotektif etkilere sahiptir (47-49).



**Şekil 2.3.** Kukurbitasin B'nin kimyasal yapısı.

Kimyasal adı (2 $\beta$ ,9 $\beta$ ,10 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,23E)-25-(asetiloksi)-2,16,20-trihidroksi-9-metil-19-norlanosta-5,23-dien-3,11,22-trion'dur (50).

Cilt kanseri hücre hatlarında kukurbitasin B ve küçük moleküllü ilaçların sinerjik etkisi Tablo 2.3.'de gösterilmiştir (51).

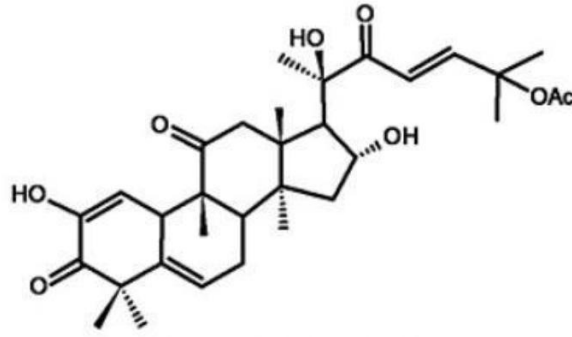
**Tablo 2.3.** Kanser hücre hatlarında kukurbitasin B ve küçük moleküllü ilaçların sinerjik etkisi.

Küçük Moleküllü İlaçlar	Kanser Hücre Hattı	Sinerjik Etkinin Mekanizması
Dosetaksel	Hep-2	Apoptozu indüklenir ve hücre döngüsü durur.
Sisplatin	Kutanöz skuamöz hücreli karsinom	Hücre proliferasyonu inhibe olur.
Sisplatin	Hep-2	Hücre büyümesini inhibe olur, hücre döngüsü durur ve apoptozu indüklenir.

### ***Kukurbitasin E***

Kukurbitasin E, esas olarak *Cucurbitaceae*'de bulunan tetrasiklik triterpenoid bileşiktir (52). Kukurbitasin E (C<sub>32</sub>H<sub>44</sub>O<sub>8</sub>), 556.7 g/mol moleküler ağırlığa sahiptir (53). Kukurbitasin E'nin kimyasal yapısı Şekil 2.4.'de görülmektedir.





**Şekil 2.4.** Kukurbitasin E'nin kimyasal yapısı.

Kimyasal adı (9 $\beta$ ,10 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,23E)-25-(asetiloksi)-2,16,20-trihidroksi-9-metil-19-norlanosta-1,5,23-trien-3,11,22-trion ( $\alpha$ -elaterin)'dur (50).

Hidroksisteroid dehidrojenaz benzeri 2 (HSDL2), melanomda aşırı eksprese edilir ve ERK ve AKT yollarını aktive ederek melanom ilerlemesini destekler. Yapılan bir çalışmanın sonucunda, Kukurbitasin E'nin HSDL2'nin mRNA ve protein ekspresyonunu engelleyebileceği gösterilmiştir. Kukurbitasin E, HSDL2'yi azaltarak ERK ve AKT yollarını inhibe edebileceği; bu nedenle Kukurbitasin E, *in vitro* ve *in vivo* olarak melanom büyümesini inhibe edebileceği görülmüştür (54).

*Momordica charantia* L. olgun meyve ekstraktının RP-HPLC ile analizi sonucu Kukurbitacin E miktarı 0.0523 (a/a)'dür (55).

#### **Momordikozid**

*Momordica* cinsi bitkiler, momordicosides adı verilen özel bir kukurbitasin grubu içerir. Özel bir kukurbitasin grubu, *Momordica charantia* L.'daki oluşumlarından sonra momordikozid olarak adlandırılır (56).

Momordikozit A ve B, momordikozit C, D ve E, momordikozit F ve I, momordikozit G ve F2, momordikozit K ve L, momordikozit Q ve R, momordikozit S ve T'nin *Momordica charantia* L. içinde olduğu tespit edilmiştir (19).

Kukurbitasinler, *Momordica charantia* L.'da da bulunmalarından dolayı adlandırılan momordikozitler olarak adlandırılır. Momordikozidler başka hiçbir bitki türünde tespit edilmemiştir. Momordikozitlerin ortak özelliği, C19'un bir aldehit grubuna oksitlenmesidir (42).

Kukurbitan tipi momordikozid (M, N ve O) ve momordikozid L, taze *Momordica charantia* L. meyvelerinden izole edilmektedir (35).

Momordikozid A; Momordikosid F1 aglycone; momordikozid F2; momordikozid G; momordikozid I; momordikozid K; momordikozid L; momordikozid Q KN meyvelerinde bulunmaktadır (57).

*Momordica charantia* L.'nin meyvesinden ekstre edilen momordikozid G'nin antiinflamatuvar etkisi bulunmaktadır (58).

*Momordica charantia* L. meyvesinden izole edilen beş kukurbitan tipi triterpenoidin kantitatif tayini için basit ve spesifik bir analitik yöntem (HPLC) geliştirilmiştir ve 3 farklı popülasyon analiz edilmiştir (Tablo 2.4.) (59).

**Tablo 2.4.** *Momordica charantia* L.'nin üç popülasyonunda bulunan triterpenoidlerin içeriği.

Analit	Popülasyon-1	Popülasyon-1	Popülasyon-1
<b>Momordikozit A</b>	0.234	Tayin edilemedi.	Tayin edilemedi.
<b>Momordikozit L</b>	0.152	0.437	Miktar tayini limitleri altında tespit edildi.
<b>Momordikozit F<sub>2</sub></b>	0.086	0.194	Miktar tayini limitleri altında tespit edildi.
<b>Momordikozit A</b>	0.110	Miktar tayini limitleri altında tespit edildi.	Miktar tayini limitleri altında tespit edildi.
<b>3<math>\beta</math>,7<math>\beta</math>,25-trihidroksi kukurbita-5, (25E)-dien-19al</b>	0.035	Miktar tayini limitleri altında tespit edildi.	Tayin edilemedi.

Değerler mg/100 mg kuru bitki materyali ağırlığı cinsindedir.

Sri Lanka'daki *Momordica charantia* L.'nin kurutulmuş meyvesinden (6,6 kg) elde edilen metanolik ekstrakt (325 g) normal faz ve ters faz kromatografisi ve tekrarlanan HPLC analizleri ile momordikozid miktarları (%) belirlenmiştir (Tablo 2.5.) (60).

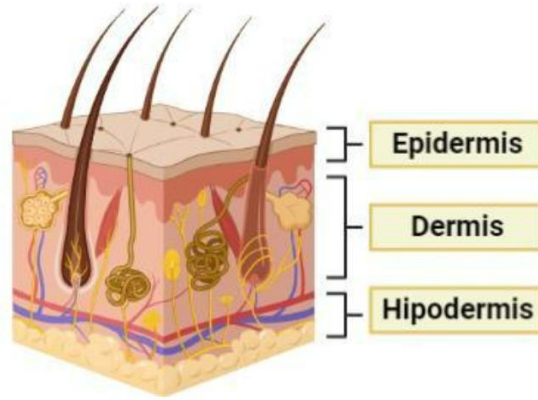
**Tablo 2.5.** *Momordica charantia* L.'nin kurutulmuş meyvesindeki momordikozid miktarları.

<b>Momordikozit</b>	<b>Yüzde (%)</b>	<b>Miktar (mg)</b>
<b>Momordikozit F<sub>1</sub></b>	0.0083	268 mg
<b>Momordikozit F<sub>2</sub></b>	0.0005	17 mg
<b>Momordikozit G</b>	0.0043	140 mg
<b>Momordikozit K</b>	0.0012	33 mg
<b>Momordikozit L</b>	0.0011	24 mg

## 2.2. Deri ve Yapısı

Deri, organizma ve çevre arasında patojenlerin istilasını önler ve kimyasal ve fiziksel saldırıların yanı sıra düzensiz su ve çözünen kaybını engelleyen etkili bir bariyerdir (61). Deri vücudun en büyük ve vücudun çevresiyle en yakın etkileşimini sağlayan organdır. Derinin koruyucu, homeostaziyi sürdürme veya algılama gibi işlevleri vardır (62).

Deri epidermis, dermis ve hipodermis olmak üzere üç katmandan oluşur (63). Bu katmanlar Şekil 2.5.'de verilmiştir. Epidermis, ana hücre tipi keratinosit olan terminal olarak farklılaşmış çok katlı bir epiteldir. Bu alt katmanlar Stratum bazale, Stratum spinosum, Stratum granülozum ve Stratum corneum'dur. Keratinositler ayrıca yaralanmaya yanıt olarak sitokinler üretir. Dermis, epidermis tabakasının bitiminden itibaren subkutan yağı da kapsayan bir tabakadır. Vücudu mekanik yaralanmalara karşı koruyan ve özel bir yapı içeren sert, esnek bir tabakadır (64). Hipodermis (deri altı doku), kolajen ve kan damarlarından oluşan fibröz septa ile ayrılmış adiposit lobüllerinden oluşan endokrin organdır (65). Derinin en derin tabakasıdır ve kıl folikülleri, duyuşal nöronlar ve kan damarları ile birlikte yağ lobülleri içerir (66).



**Şekil 2.5.** Derinin katmanları.

Yara, normal anatomik yapı ve fonksiyonda hasar veya bozulma olarak tanımlanır. Bu, cildin epitel bütünlüğündeki basit bir kırılmadan daha derine inebilir yani tendonlar, kaslar, damarlar, sinirler, parankimal organlar ve hatta kemik gibi diğer yapılara zarar vererek deri altı dokuya kadar uzanabilmektedir. Yaralar, ilgili organ içinde harici veya dahili olarak başlayan patolojik süreçlerden kaynaklanabilir. Kazara veya kasıtlı bir nedene sahip olabilirler veya bir hastalık sürecinin sonucu olabilirler. Yaralanma, nedeni ve şekli ne olursa olsun dokuya zarar verir ve dokunun içindeki lokal çevresini bozar (67).

### **2.3. Yaraların Patolojisi**

Yaralar, derinin açılmasına veya çatlamasına neden olan yaralanmalardır. Derinin bozulmuş anatomik devamlılığının ve bozulmuş fonksiyonel durumunun restorasyonu için yaraların uygun de iyileşmesi esastır (68). İyileşme, cilt veya dokunun normal yapısının ve fonksiyonunun eski haline getirilmesindeki karmaşık bir süreçtir (69).

İyileşme; trombosit agregasyonu ve kan pıhtılaşması, fibrin oluşumu, yaralanmaya karşı inflamatuvar bir yanıt, zemin maddelerinde değişiklik, anjiyogenez ve yeniden epitelizasyonu içerir ve bozulan yüzeylerin kolajen tarafından sıkıca kaplanmasıyla tamamlanır (70).

Tüm yaraların iyileşmesi için temel gereksinim, enfeksiyon, nekrotik doku ve yabancı madde içermeyen temiz, yeterince perfüze edilmiş bir yara ortamıdır. Beslenme ve immünolojik durum, stres, sigara kullanımı ve böbrek yetmezliği ve

diyabet gibi sistemik faktörlerin tümü yara iyileşmesini etkiler. Optimal yara iyileşmesi için bu faktörlerin etkin bir şekilde yönetilmesi gerekir (71).

Kutanöz yara onarımı itihaplanma, doku oluşumu ve doku yeniden şekillenmesini içeren dinamik bir süreçtir (72).

Akut yanıtın bir parçasını oluşturan iltihaplanma, yara bölgesinde koordineli bir nötrofil akışına neden olur. Bu hücreler, karakteristik “solunum patlaması” yoluyla aktivite, serbest radikaller üretir. Yara ile ilgili fagositik olmayan hücreler de fagositik olmayan NAD(P)H oksidaz mekanizmasını dahil ederek serbest radikaller üretirler. Böylece yara bölgesi hem oksijen hem de nitrojen merkezli reaktif türler ile bunların türevleri açısından zengindir. Bu radikallerin varlığı, lipid peroksidasyonuna, deoksiribo nükleik asit (DNA) kırılmasına ve serbest radikal süpürücü enzimler dahil enzim inaktivasyonuna yol açan oksidatif stres ile sonuçlanacaktır. Hastalarda serbest radikal süpürücü özelliklere sahip bileşiklerin topikal uygulamalarının, yara iyileşmesini önemli ölçüde iyileştirdiği ve dokuları oksidatif hasardan koruduğu gösterilmiştir (73).

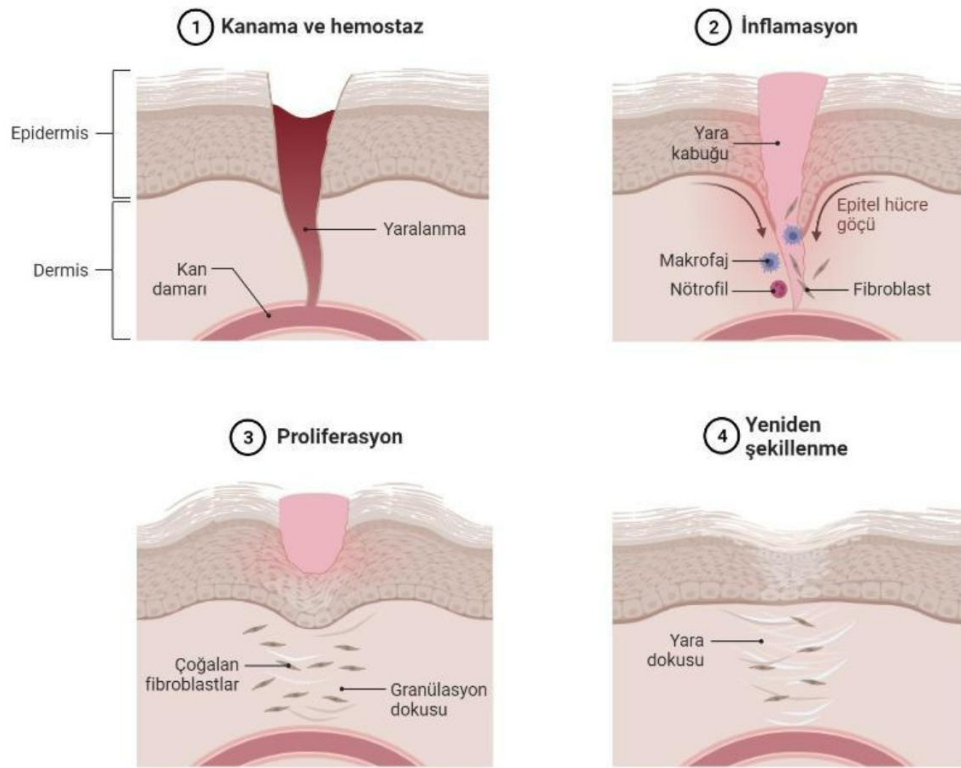
#### 2.4. Yara İyileşmesi Aşamaları

Yara iyileşmesi, dört aşamadan oluşan dinamik bir süreçtir. Bu aşamalar Tablo 2.6.’ da özetlenmiştir (74).

**Tablo 2.6.** Yara iyileşmesi aşamaları.

Aşama	Hücresel ve Biyofizyolojik Olaylar
<b>1. Hemostaz</b>	1. Vasokonstriksiyon 2. Trombosit agregasyonu, degranülasyonu ve fibrin oluşumu (trombüs)
<b>2. Enflamasyon</b>	1. Nötrofil infiltrasyonu 2. Monosit infiltrasyonu ve makrofaj farklılaşması 3. Lenfosit infiltrasyonu
<b>3. Proliferasyon</b>	1. Yeniden epitelizasyon 2. Anjiyogenez 3. Kollajen sentezi 4. Ekstrasellüler matris (ECM) oluşumu
<b>4. Yeniden olgunlaşma</b>	1. Kollajen yeniden oluşumu 2. Vasküler olgunlaşma ve gerileme

İlk aşama olan hemostaz, yaralanma anında meydana gelir ve genellikle saatler içinde tamamlanır. İkinci aşama, inflamasyon, hemostazdan kısa bir süre sonra başlar ve genellikle yaralanmadan sonraki ilk 24 ila 72 saat içinde tamamlanır; ancak, yaralanmadan sonra 5 ila 7 gün kadar sürebilir. Üçüncü aşama, proliferasyon, tipik olarak yaralanmadan 1 ila 3 hafta sonra ortaya çıkar. Dördüncü ve son aşama olan yeniden lenme, yaralanmadan yaklaşık 3 hafta sonra başlar ve fizyolojik tamamlamanın sağlanması aylar ile birkaç yıl arasında sürebilir (69). Yara iyileşmesi aşamaları Şekil 2.6.'da görülmektedir.



Şekil 2.6. Yara iyileşmesi aşamaları.

#### 2.4.1. Vasküler Tepki: Hemostaz ve Pıhtılaşma

Hemostatik sistem, kan damarları, trombositler ve fibrinolitik faktörler ve bunların inhibitörlerini içeren plazma pıhtılaşma sisteminden oluşur (75). Vazokonstriksiyondan hemen sonra, birincil hemostaz ve daha sonrada ikincil hemostazın oluşması ile üç aşamalı bir süreçtir (76).

Hemostaz, kan pıhtısı oluşumu ile kanamayı durduran ve iki ana aşamalı bir mekanizma ile gerçekleşen süreçtir. Hemostazın birincil aşamasında trombositler,

aktive oldukları yaralı bölgeye yapışır. Aktive trombositler ayrıca serbest trombositleri aktive eder ve bir trombosit tıkaçı oluşturmak için toplar. Hemostazın ikincil aşamasında, dışsal ve içsel pıhtılaşma yolları tarafından üretilen trombin, fibrinojeni fibrine dönüştürür, bu daha sonra trombosit pıhtıları ve kan hücreleri ile bir trombüs oluşturur (77).

Yara oluşumu sırasında açığa çıkan kolajen, inflamatuvar fazı başlatan pıhtılaşma kaskadını (hem içsel hem de dışsal yollar) aktive eder (78).

Üç mekanizma ile elde edilen bir pıhtı oluşumu;

1. İçsel yol: Pıhtılaşma kaskadının içsel yolu (temas aktivasyonu yolu) doku hasarının bir sonucu olarak endotel hasarı, subendotelial dokuları kana maruz bırakır ve bu da faktör XII'nin aktivasyonu ile sonuçlanır. Bu, protrombini trombine dönüştüren faktör X'in aktivasyonu ile sonuçlanan proteolitik bölünme kaskadını başlatır ve bu da fibrinojenin fibrine dönüşümü ve bir fibrin tıkaçı oluşumu ile sonuçlanır (79).

2. Dışsal yol: Pıhtılaşma kaskadının dışsal yolu (doku faktörü yolu) endotel hasarı, doku faktörünün (çoğu hücrede bulunur) dolaşımdaki kana maruz kalmasıyla sonuçlanır. Bu, faktör VII'nin aktivasyonu ve nihayetinde trombin aktivasyonu ile sonuçlanan pıhtılaşma kaskadının ekstrinsik yolunun geri kalanı ile sonuçlanır (80).

3. Platelet aktivasyonu: Trombin, tromboksan veya adenosin difosfat aktivasyonunu takiben trombosit aktivasyonu ile trombositler morfolojide bir değişikliğe uğrar ve alfa ve yoğun granüllerinin içeriğini salgılar. Aktive trombositler, bir trombosit tıkaçı oluşturmak ve kanamayı geçici olarak durdurmak için açığa çıkan kollajen bölgelerine yapışır ve kümelenir. Bu tıkaç, trombositlerdeki aktin ve miyozin filamentlerinin yanı sıra fibrin ve von Willebrand faktörü tarafından güçlendirilir (79).

#### **2.4.2. Hücresel Yanıt: Enflamasyon**

Yara iyileşme kaskadının inflamatuvar fazı, hemostaz ve pıhtılaşma fazı sırasında aktive olur. Kabaca nötrofil alımı ile erken bir faza ve monositlerin görünümü ve dönüşümü ile geç bir faza bölünebilmektedir (81).

Nötrofiller, doku hasarı bölgelerinde çok sayıda birikir. Deri veya mukoza yaralanmaları dış ortama karşı bariyerleri bozar ve nötrofiller bakterisidal etkileri ile

mikrobiyal istilayı önlemektedir. Ayrıca yaralı bölgeye dolaşımdan alınan ilk hücrelerdir (82). Doğuştan gelen bağışıklık hücresi olan nötrofil, ilk savunma hattına aracılık eder ve yara iyileşmesinin enflamatuvar yanıtının başlamasını sağlar. Nötrofillerin yara bölgesindeki ana işlevi, istilacı mikropları yok ederek açık yarayı dekontamine etmek yani temizlemektir. Nötrofiller, interlökin-8 (IL-8) ve Vasküler endotelial büyüme faktörü-8 gibi yaralı dokunun revaskularizasyonunu ve onarımını destekleyebilecek çeşitli büyüme faktörlerini salgılar (83).

Nötrofiller yaraya sızdıktan hemen sonra apoptoza girer ve bu apoptotik süreç sırasında sitokinlerin salınımı makrofaj alımında önemli bir bileşendir. Makrofajlar, yaralanmadan 2 gün sonra yaraya kitlesel olarak sızar ve bu aşamada yoğun bir fagositik aktiviteyi şiddetlendirir (84).

Nötrofil seviyesi düştükçe, kısa sürede doku makrofajlarına aktive olan bir monosit akışı olur. İltihabın geç evresine girilmiş olunur ve makrofajlar fagositoz ile debridman (yaradaki bütün yabancı cisimleri çıkartma) işlemine devam eder ve ölü nötrofil hücrelerini uzaklaştırır (85).

Makrofajlar, enflamatuvar ve debridman süreçlerine katılır ve bunları tamamlar. Antimikrobiyal işlevleri fagositoz ve nitrik oksit, oksijen ve peroksit gibi reaktif radikallerin üretimi ile gerçekleştirilir. Makrofajların yara iyileşmesine en büyük katkısı sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin salgılanmasıdır. Bu sitokinler, diğer makrofajlar veya lenfositler gibi yara iyileşmesinde rol oynayan diğer hücreleri aktive etmek ve toplamak için parakrin bir de hareket eder. Sitokinler ve büyüme faktörleri ayrıca fibroblast kemotaksisini, proliferasyonunu ve kollajen sentezini ve endotel hücreleri gibi onarım sürecinde yer alan diğer hücreleri de düzenler (86).

T hücreleri, yara iyileşmesinde modülatör bir rol oynamaktadır (87). Yarada lenfositler ortaya çıkmasıyla hücre dışı matris yapı iskelesi üretimi ve kolajenin yeniden lenmesi yoluyla yara iyileşmesini düzenlenmektedir. T-lenfositlerin inhibisyonu ile yara gücünün azalır ve kollajen birikimi bozulur (79). Lenfositlerin yara iyileşmesindeki en önemli işlevi, T hücrelerinin belirli bir alt kümesinin, bir grup çözünür hümmoral aracı olan lenfokinleri sentezleme yeteneğidir (88).



### 2.4.3. Proliferasyon ve Onarım

#### *Yeniden epitelizasyon (Reepitelizasyon)*

Reepitelizasyon, yara yüzeyini bir epitel tabakasıyla kaplamayı amaçlar ve epidermal keratinositlerin farklılaşmasına, çoğalmasına ve göçüne dayanır. Yara yatağı, çoğalan fibroblastlar, yeni bir kolajen matrisi ve yeni damarlar ile düzgün bir de oluşturulduktan sonra, yeniden epitelizasyon süreci başlar. Keratinositler aktive olur ve yara bölgesine göç eder. Bu işlem yara kenarlarındaki epitelyal ve epitelyal olmayan hücrelerin, sayısız farklı sitokin ve büyüme faktörünü serbest bırakan sinyal yollarıyla, örneğin epidermal bütüme faktörü keratinosit büyüme faktörüne gibi aktive edilir (89).

#### *Neovaskülarizasyon/Anjiyogenez*

Vasküler yenilenme kan akışı değişikliklerine neden olur. Anjiyogenez, endotelial hücreler proliferasyonu, bazal membranın rüptürünü ve yeniden düzenlenmesini, tübüler yapılarda migrasyon ve birleşmeyi ve perivasküler hücrelerin toplanmasını içeren koordineli bir süreçtir (90).

#### *Kolojen Sentezi*

Lezyondan yaklaşık 4 gün sonra granülasyon dokusu oluşmaya başlar. Adını yeni oluşan dokunun granüler görünümünden alır. Granülasyon dokusu sırasıyla; fibroblastik proliferasyonda bir artış; üç boyutlu bir hücre dışı bağ dokusu ağı oluşturan kolajen ve elastik biyosentez; ve fibroblastlar tarafından kemotaktik faktörlerin ve IFN-beta'nın üretimi mekanizmalarından oluşur. Fibroplazi, yeni matrisin birikmesinden sorumlu ana ajanlar olan fibroblastların proliferasyonu ile karakterize edilen granülasyon dokusunun oluşumu ile başlar. Olgun bir bağ dokusu skarının ana bileşeni kolajendir. Kollajen üreten fibroblastlar, bu proteini sentezlemek için yara sınırının dermisinden toplanır. Epidermis ve dermis arasında sağlam bir bazal membranın oluşumu, bütünlüğünün ve fonksiyonunun yeniden oluşması önemlidir. Onarımın bu ilk aşamasında, granülasyon dokusundaki fibroblastlar tarafından sentezlenen tip III kollajen baskındır (90).

#### *ECM oluşumu*

ECM, kimyasal ve mekanik sinyaller kullanarak hücrelerin davranışını kontrol eden biyoaktif bir ortam sağlar. ECM, hücre dışı matris, integrinler, sitokinler ve büyüme faktörleri aracılığıyla hücre farklılaşması ve ölümünün düzenlenmesinde

rol oynar ve glikoproteinler (fibronektin, proteoglikanlar, laminin) ve lifli proteinler (kollajen, elastin)i içerir. Ayrıca fibrin; fibronektin; vitronektin; elastin; fibrillin; integrinler (hücre zarı ile ilişkili reseptörler); ve lamininleri (bazal membranın bir parçasını oluşturan salgılanan moleküller) içerir.

Fibrin, fibronektin ve vitronektin, yara iyileşmesinde hemostaz ve hücre göçünün anahtar araçlarıdır. Fibrin yaralardaki ilk fibröz yapıdır. Çözünür kan plazma fibrinojeninden oluşur ve yara iyileşmesi sırasında geçici bir pıhtı matrisi oluşturur. Fibroblastlar yara bölgesine göç ettiğinde, fibroblastlar fibrin matriksini sıkıştırır ve onu migrasyon ve doku yenilenmesi için bir yüzey olarak kullanır, onu kollajen ve diğer ECM proteinleri ile değiştirir. Yara iyileşmesi sırasında, fibronektin, hücre dışı matrisin organizasyonu ve stabilizasyonunda yer alır. Kollajen I ve diğer hücre dışı matris proteinlerinin birikmesi için gereklidir ve ayrıca kolajen liflerinin güçlendirilmesinde rol oynayan lisil oksidazın aktivitesini düzenlemek için de gereklidir (91).

#### **2.4.4. Yeniden Olgunlaşma**

Lezyonun başlangıcından 2 ile 3 hafta sonra başlayan ve bir yıl veya daha fazla sürebilen son aşama yeniden olgunlaşmadır. Yeniden olgunlaşma aşamasının temel amacı, yeniden düzenleme, bozunma ve hücre dışı matrisin yeniden sentezidir. Lezyonun iyileşmesinin bu son aşamasında, normal doku yapısını geri kazanma girişimi meydana gelir ve granülasyon dokusu yavaş yavaş yenilenir, daha az hücresel ve vasküler olan ve kollajen liflerinin miktarlarında ilerleyici bir artış sergileyen skar dokusu oluşturur.

Bu aşamada, hücre dışı matristeki değişikliklerle elementlerin olgunlaşması ve ilk iltihaplanmanın çözülmesi ile işaretlenir. Lezyonun yüzeyi tek tabaka keratinositlerle kaplanır kaplanmaz epidermal göçü durur ve altında bir bazal lamina bulunan yeni tabakalı epidermis, yaranın sınırlarından iç kısmına doğru yeniden oluşturulur. Bu aşamada, matrisin birikmesi ve ardından bileşiminde değişiklik olur. Yaranın kapanması ile tip III kollajen bozulmaya uğrar ve tip I kollajen sentezi artar.

Yeniden olgunlaşma boyunca, hücreler ve plazmatik metalloproteinaz tarafından parçalanmış hyaluronik ve fibronektik asitte bir azalma olur ve büyüyen tip I kollajen ekspresyonu eşzamanlı olarak işlenir (90). Daha sonra miyofibroblastlar

kollajene çoklu tutunarak yara kontraksiyonlarına neden olur ve gelişen skar yüzeyinin küçülmesine yardımcı olur. Ayrıca, anjiyojenik süreçler azalır, yara kan akışı azalır ve akut yara metabolik aktivitesi yavaşlar ve sonunda durur. Oluşan skarın epidermisi, normalde alttaki bağ dokusu matriksine sabitlenen ve epiderminin dermise sıkı bir de bağlanmasından sorumlu olan rete peglerin (bağ dokunun papiller tabakasının epitel doku içerisine yaptığı parmaklı uzantı) olmaması nedeniyle yara iyileşmesinden sonra yaralanmamış deriden farklıdır (92).

Özetle bu aşamada, cildin iyileşmesine ve estetik restorasyonuna yol açan doku yenilenmesi ve farklılaşması olmaktadır. Dermisin yeniden yapılandırılması, matris kollajenin yeniden düzenlenmesi ile gerçekleşir. Fibroblastların miyofibroblastlara farklılaşması, yaranın kasılmasını ve kapanmasını sağlamaktadır (93).

## 2.5. Yaraların Sınıflandırılması

Tablo 2.7.'de çeşitli yara oluşum biçimleri sınıflandırılmıştır (94-97).

**Tablo 2.7.** Yaraların sınıflandırılması.

<p><b>1. Dış ortam maruziyetine göre yaralar</b></p>	<p><b>Açık yaralar</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Kesikler</li> <li>Sıyrıklar</li> <li>Yırtılmalar</li> <li>Ampulasyonlar</li> <li>Avulsiyonlar</li> <li>Delinmeler</li> </ul> <p><b>Kapalı yaralar</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Kontüzyonlar ve morluklar</li> <li>Ezilme yaralanmaları</li> <li>Hematomlar ve tümörler</li> </ul>
<p><b>2. Derinliğe göre yaralar</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Yüzeysel yaralar</li> <li>Kısmi kalınlıktaki yaralar</li> <li>Tam kalınlıktaki yaralar</li> </ul>

**Tablo 2.7.** (Devam) Yaraların sınıflandırılması.

<b>3. Yanıklar</b>	Birinci derece yaralar İkinci derece yaralar Üçüncü derece yaralar Dördüncü derece yaralar
<b>4. Yara iyileşme sürecine göre yaralar</b>	Akut yaralar Kronik yaralar
<b>5. Kontaminasyon ve postoperatif enfeksiyon riskine göre yaralar</b>	Sınıf I-Temiz yaralar Sınıf II-Temiz/kontamine yaralar Sınıf III-Kontamine yaralar Sınıf IV-Kirli yaralar

### 2.5.1. Dış Ortam Maruziyetine Göre Yaralar

**Açık yaralar:** Alttaki dokunun maruz kalmasıyla cilt tabakasının hasar gördüğü yaralardır.

**Kapalı yaralar:** Alttaki dokunun travmatize olduğu ancak derinin kesilmediği yaralardır (97).

### 2.5.2. Derinliğine Göre Yaralar

**Yüzeysel yaralar:** Yüzeysel yaralar, sadece epidermisi ve papiller dermisi tutan yaralar olarak tanımlanır. Önemli bir skar oluşumu ve yara kontraksiyonu yoktur. Bu yara derinliği, enfeksiyon önlenir ve uygun yara ortamı sağlanırsa 10 gün içinde iyileşir (95).

**Kısmi kalınlıktaki yaralar:** Sadece derinin epidermal tabakasını içeren veya yarayı kapatmak için ihtiyaç duyulan yeni epidermisi oluşturmak için dermis en azından kısmen bozulmamış haldedir ve epidermisten dermise uzanan yaralardır.

**Tam kalınlıktaki yaralar:** Deriden alttaki dokulara tamamen nüfuz eder ve yağ dokusu, kas, tendon veya kemiği açığa çıkarabilir. Bunlar, daha fazla vücut kaynağı ve zaman gerektiren granülasyon ve kasılma ile iyileşir (97).

Sonuç olarak derinin yüzeysel kalınlıktaki yaralarında, hasar epidermise ve dermisen yüzeysel kısımlarına yayılırken, kısmi kalınlıktaki yaralar dermisen daha büyük kısımlarını ve tam kalınlıktaki yaralarda deri altı doku tabakasını bile içerir (98).

### 2.5.3. Yanıklar

**Birinci derece yanıklarda:** Deri vezikülasyon (kabarcık) olmadan eritemli (kızarıklık) olan yanıklardır.

**İkinci derece yanıklar:** Epidermis ve dermisin değişken kalınlığına göre 2'ye ayrılır. İkinci derece-yüzeysel yanıklarda vezikasyon ve iltihap sadece papiller dermis tutulduğu için deride görülür. İkinci derece-derin yanıklarda yara kabuğu oluşumu derin retiküler dermisi tuttuğunda görülür.

**Üçüncü derece yanıklar:** Tam kalınlıkta yanıklar olarak da bilinir bu yanıklarda yara kabuğu oluşumu vardır (99).

**Dördüncü derece yanıklar:** Sıklıkla ölümcül yaralanma ile ilişkilendirilir. Bu yaralanmalar, tendon veya kemik gibi canlı dokuların maruz kalmasıyla karakterize edilir ve zorlu yara kapanması ile ilişkilidir (100).

### 2.5.4. Yara İyileşme Sürecine Göre Yaralar

**Akut yaralar:** Normalde anatomik ve fonksiyonel bütünlüğün sürekli restorasyonu ile sonuçlanan düzenli ve zamanında bir onarım sürecinden geçen yaralardır (101). Akut yaralar tipik olarak künt veya delici (cerrahi kesikler, ateşli silahlar, hayvan ısırıkları vb.) olabilen bir tür travmadan kaynaklanır (80).

**Kronik yaralar:** Anatomik ve fonksiyonel bütünlük oluşturmak için düzenli ve zamanında bir süreçten geçememiştir veya sürekli bir anatomik ve fonksiyonel sonuç oluşturmadan onarım sürecinden geçmiştir (101).

Kronik yaralar, iyileşmenin normal aşamalarında ilerlemeyen ve bu nedenle patolojik bir inflamasyon durumuna giren yaralardır. İyileşme süreci gecikir, tamamlanmaz ve koordineli olarak ilerlemez, bunun sonucunda zayıf anatomik ve fonksiyonel sonuçlara neden olur. Bu yaralar büyük bir sakatlığa neden olur ve kroniklik ve sık tekrarlama ile karakterize edilir. İyileşmeyen bir yaranın altında yatan etiyolojinin ayırıcı tanısı geniştir, ancak ülserlerin çoğuna (~%70) diyabetes mellitus, venöz staz ve sekonder iskemi neden olur (102).

Akut yaralar genellikle travma veya iltihaplanmayı takip eder ve genellikle altı hafta içinde iyileşirken kronik yaralar altı hafta sonra iyileşme göstermemektedir (103).

### 2.5.5. Kontaminasyon ve Postoperatif Enfeksiyon Riskine Göre Yaralar

**Sınıf I-Temiz yaralar:** Enflamasyonla karşılaşılmayan ve solunum, beslenme, genital veya enfekte olmayan idrar yollarına girilmeyen enfekte olmamış cerrahi yaralardır. Bunlar öncelikle kapatılır ve gerekirse kapalı drenaj ile drene edilir.

**Sınıf II-Temiz/Kontamine yaralar:** Kontrollü koşullar altında ve olağan dışı bir kontaminasyon olmaksızın solunum, beslenme, genital veya idrar yollarına girilen operasyonlu bir yaradır. Spesifik olarak, safra yolları, apendiks, vajina ve orofarenks içeren operasyonlar, enfeksiyon kanıtı veya steril bir teknikte büyük bir kırılma ile karşılaşılması koşuluyla bu kategoriye dahil edilir.

**Sınıf III-Kontamine yaralar:** Açık, taze, kaza sonucu oluşan yaralardır. Ayrıca, steril teknikte büyük bir bozulma olan veya gastrointestinal kanaldan büyük bir dökülme olan cerrahi işlemler ve akut, pürülan olmayan iltihapla karşılaşıldığı kesiler bu kategoriye girer.

**Sınıf IV/-Kirli yaralar:** Canlılığını kaybetmiş dokuya sahip eski travmatik yaralar ve mevcut klinik enfeksiyonu veya perfore iç organları içeren yaralardır. Bu tanım, postoperatif enfeksiyona neden olan organizmaların operasyondan önce operasyon alanında bulunur (104).

İngiltere'de yaygın olarak kullanılan yara sınıflandırma prosedürü, ilk olarak 1970'lerin ortalarında Lederle adlı bir şirket tarafından başlatılan pembe, kırmızı, sarı, yeşil ve siyahtan oluşan sistemdir. Lederle, Varidase'in nekrotik yaralarda kullanım için endike olduğunu ve tanıtım literatüründe yaraları tanımlamak için bir renk sistemi kullanmaktadır (Tablo 2.8.). Bu halen uygulamada ve öğretim amaçlı kullanılan en yaygın yöntemdir (105).

**Tablo 2.8.** Yara tanımlanmasındaki renk sistemi (105).

<b>Pembe</b>	Bu, iyileşmenin son aşamalarındaki sağlıklı dokudur. Pembemsi beyaz epitel dokusu yara kenarlarından göç eder ve doku dermiste kıl folikülü kalıntıları içerecektir.
<b>Kırmızı</b>	Bu doku koyu kırmızı veya pembedir ve dokuya "etli bir görünüm" veren düzensiz kırmızı granülleri yükseltmiştir. İnce kılcal halkalar bulunur ve sonuç olarak bu doku kolayca kanayabilir.

**Tablo 2.8.** (Devam) Yara tanımlanmasındaki renk sistemi [105].

<b>Yeşil</b>	Yeşil eksüda <i>Pseudomonas spp.</i> yara yatağında bulunur. Patojenik organizmalar yara iyileşmesini geciktirebilir ve yara, iltihaplanma gibi klinik enfeksiyon belirtileri gösterebilir. Klinik olarak enfekte yaralardan gelen eksüdalar sarı, yeşil, koyu kırmızı/kahverengi veya gri arasında değişir. Bir enfeksiyondan şüpheleniliyorsa, enfeksiyona neden olan organizmayı belirlemek için bir sürüntü alınmalıdır.
<b>Sarı</b>	Bu doku, yara yüzeyinden ölü hücrelerin kalıntılarını içerir. Kalıntı çok miktarda ölü lökosit, bakteri ve lifli doku içerir ve bunlar dokuya sarı kremi bir görünüm verir. Kabuk varlığı yaranın sağlıklı olmadığını değil, yaranın sağlıklı dokuya yer açmak için ölü dokuyu uzaklaştırdığının bir göstergesi olarak alınmamalıdır.
<b>Siyah</b>	Bu doku sert siyah/kahverengi kösele doku (eskardan) oluşur. Bu doku çıkarılmalıdır.

Yara iyileştirme sürekliliği, yaranın içinde bulunan doku tipi ve ilerleyişi anlamak için bir yardımcıdır. Önemli olan hangi doku tipinin birincil öneme sahip olduğunu belirlemektir. En şiddetli “yayılan yara enfeksiyonu” en solda olmak üzere soldan sağa doğru ilerleyen dört aşama vardır. Yani soldan sağa, siyahtan pembeye doğru takip edildiğinden, iyileşen bir yarada görülen renklerle bağıntılıdır. Yara iyileştirme sürekliliğini kullanırken, önce sürekliliğin en solundaki renk belirlenir. Örneğin, yara sarı kabuk ve kırmızı granülasyon dokusu içeriyorsa, 'sarı/kırmızı yara' olarak tanımlanır. Yara iyileştikçe, süreklilik boyunca sağa ve 'pembe/iyileşme' durumuna doğru ilerleyebilir (106). Ayrıca birçok yara, çeşitli farklı renkli dokularla da ortaya çıkmaktadır (107).

## 2.6. Yara İyileşmesinin Türleri

Yara iyileşmesi türleri primer iyileşme, gecikmiş primer iyileşme, sekonder iyileşme ve yüzeysel (kısmi kalınlıkta) yaraların iyileşmesidir (108).

**Primer iyileşme:** Yaralar temizdir ve doku onarımı genellikle komplikasyonsuz ilerler ve hızla iyileşme eğilimindedir. Örnek olarak cerrahi kesiler verilebilir (109).

**Gecikmiş primer iyileşme:** Yaranın kontamine olması ve enfeksiyonu önlemek için açık bırakılması ve yara kapanmasının birkaç gün sonra yapılması gecikmiş primer iyileşme olarak adlandırılır (80).

**Sekonder iyileşme:** Primer iyileşmeye göre doku kaybı daha fazladır ve sekonder iyileşmede yara kenarları yakınlaşamaz. Proliferasyon aşamasındaki patolojinin bir sonucu olarak, yaralar geniş bir granülasyon dokusu ile dolar. Enfekte yaralar ve yanıklar bu de iyileşebilir (109).

**Yüzeysel (kısmi kalınlıkta) yaraların iyileşmesi:** Örneğin yüzeysel yanıklar gibi, kısmi kalınlıkta donör greft bölgeleri ve yaralanmanın epiteli ve dermisin yüzeysel (papiller) kısmını kapsadığı sıyrıklar gibi yaralanmalarda görülür. Bazal hücre tabakası zarar görmeden kalır ve dermal uzantılar, saç folikülleri ve yağ bezleri içindeki epitel hücreleri, açıkta kalan dermisi örtmek için çoğalır; hücreler yarayı çevrelemek için bazal tabakadan birbirlerine doğru göç ederler (108).

## 2.7. Cilt Kanseri

Kanser yaşa, cinsiyete, ırka, sosyoekonomik duruma, coğrafi konuma ve zamana göre değişen kompleks bir hastalıktır (110). İnsan vücudundaki hücre tiplerinin ve organlarının çoğundan kaynaklanan ve normal doku sınırlarını aşabilen ve uzak organlara metastaz yapabilen hücrelerin nispeten sınırsız çoğalmasıyla karakterize edilmektedir (111).

Cilt kanseri, dünya çapında en yaygın kanser türüdür ve insidansı artmaya devam etmektedir. Geniş bir de melanositlerden (melanom) ve epidermal olarak türetilmiş hücrelerden (melanom dışı deri kanserleri) kaynaklanan kanserler olarak ikiye ayrılır. Yüksek prevalansları ve sık görülmeleri cilt kanserini önemli bir halk sağlığı sorunu haline getirmektedir. Cilt kanseri gelişme riski, genetik ve çevresel faktörlerin bir kombinasyonundan kaynaklanır; en yaygın neden, ultraviyole (UV) ışığa uzun süre maruz kalmaktır (112).



### 2.7.1. Cilt Kanseri Risk Faktörleri

Cilt kanserinin genetik ve çevresel risk faktörleri bulunmaktadır (Tablo 2.9.).

#### *Genetik Faktörler*

Hastanın ten rengi fenotipi önemlidir yani düşük Fitzpatrick fototipine sahip bireyler yüksek risk altındadır. Kızıl saçlı ve çilli hastalar, melanokortin-1 reseptörü geninin R alel varyantının iki kopyasını taşırlar ve cilt kanseri görülme riski yüksektir. Nadir otozomal resesif durum xeroderma pigmentosa, UV ışığının neden olduğu hasarı onarma yeteneğinin kusurlu olduğu bir DNA onarım bozukluğudur. Bu, hastaları çillenme, güneş yanığı ve erken çocukluk cilt malignitelerinde artışa yatkın hale getirir. Bazal hücre naevus sendromu, tümör baskılayıcı protein haynaklı homolog 1 genindeki bir mutasyonun neden olduğu otozomal dominant bir durumdur. Bu, hücrelerin kontrolsüz bir de çoğalmasına izin verir ve hastalar çoklu bazal hücreli karsinomlarla (BCC'ler) ortaya çıkar (112).

#### *Çevresel Faktörler*

Güneş maruziyetinden kaynaklanan UV radyasyonun cilt kanserinin en önemli nedenidir. Güneş yanığı ve güneşe ve bronzlaşma lambalarına aşırı maruz kalma, cilt kanserinin patogenezinde yer alan immünoşüpresyona neden olan hasara yol açarlar. Ozon incelmesi, UV ışığı seviyeleri, enlem, yükseklik ve ayrıca hava koşulları, dünya yüzeyine ulaşan UV radyasyonunun emisyonunu etkiler. Ayrıca çevresel kirlenmeler, kimyasal karsinojenler ve karsinojenlere mesleki maruziyet, cilt kanseri ile ilişkilendirilmiştir (113).

**Tablo 2.9.** Cilt kanserini etkileyen genetik ve çevresel faktörler.

<b>Genetik Faktörler</b>	<b>Çevresel Faktörler</b>
Ten rengi	Ozon incelmesi
Saç rengi	Yüzey UV radyasyonu ve hava kirliliği
Nadir otozomal resesif durum xeroderma pigmentosa	Arsenik
Naevus sendromu	İklim değişikliği

### 2.7.2 Cilt Kanseri Türleri

Cilt kanseri, melanom ve melanom dışı cilt kanseri olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Bazal ve skuamöz hücreli karsinomlar melanom dışı cilt kanseridir (114). Melanom Dışı Cilt Kanseri ve Melanom başlıkları altında anlatılan cilt kanseri türleri Tablo 2.10.'da özetlenmiştir.

**Tablo 2.10.** Cilt kanseri türleri.

Cilt kanseri türü	Oluşum yeri	Görünüm	Şiddet	Sıklık
Bazal Hücreli Karsinom	Deri epidermisinin bazal hücrelerinde gelişir.	Genellikle kırmızı renkli lekeler şeklinde görünür.	Diğer 2 türden daha az şiddetlidir.	En sık görülen kanser türüdür.
Skuamöz Hücreli Karsinom	Deri epidermisinin skuamöz hücrelerinde gelişir.	Kırmızı veya siyahımsı sarı lekeler şeklinde görünür.	Bazal hücreli karsinomdan daha şiddetlidir.	Bazal hücreli karsinomdan daha az görülür.
Melanom	Melanosit adı verilen deri hücrelerinde gelişir.	Çok renkli, asimetrik, boyut 6 mm'ye ulaşabilir.	Ölümcül cilt kanseri olarak adlandırılan en şiddetli tiptir.	Nadiren oluşur.

### Melanom Dışı Cilt Kanseri

Melanom dışı cilt kanseri, beyaz ırkta en sık görülen malignitedir ve insidansı her yıl artmaya devam etmektedir. UV radyasyonuna maruz kalma, melanom dışı cilt kanserinin yaklaşık %90'ını başlatarak keratinositlerin malign transformasyonuna ve inflamatuvar yanıtın baskılanmasına neden olur (115).

#### - Bazal Hücreli Karsinomlar (BCC)

Tüm melanom dışı cilt kanseri vakalarının yaklaşık %80'ini oluşturan en yaygın cilt kanseri türüdür. BCC, açık ten tipine sahip bireylerde en sık görülen iyi huylu olmayan tümördür. Tümör yavaş büyür ve nadiren metastaz yapar (116). Bu kanser türünün en sık görüldüğü yerler yüz ve kafa derisidir. Genellikle kırmızı renkli lekeler şeklinde görünür (117). Tedavi edilmezse veya yetersiz tedavi edilirse, BCC özellikle yüzde olmak üzere geniş doku tahribatına neden olabilir. BCC'nin ilk basamak tedavisi genellikle cerrahi eksizyondur. Küretaj, kriyocerrahi, lazer tedavisi,

linik olarak normal dokudan önceden belirlenmiş sınırlar ile cerrahi eksizyon, frozen kesit kontrolü altında eksizyon, Moh's mikroskopik cerrahi, radyoterapi, topikal tedavi, lezyon içi tedavi, fotodinamik terapi, immünomodülatörler ve kemoterapi dahil birçok alternatif mevcuttur (118).

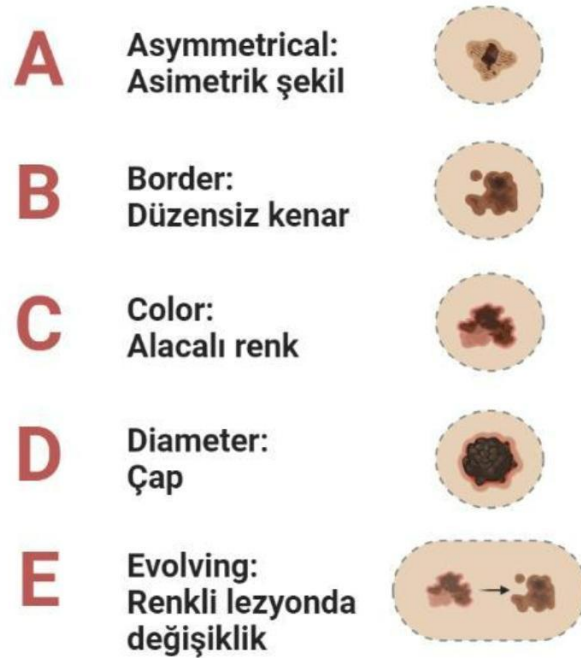
#### - *Skuamöz Hücreli Karsinom*

Cildin skuamöz hücreli karsinomu, erkeklerde daha sık görülen ve özellikle güneşe maruz kalan açık tende yaygın olan ikinci en yaygın cilt malignitesidir. Derinin "yüksek riskli" skuamöz hücreli karsinomlarının metastaz ve nüks riski daha yüksektir (119). Tüm bazal hücreli karsinomların aksine, kutanöz skuamöz hücreli karsinomlar, önemli bir metastaz riski ile ilişkilidir (120). Bu kanser daha çok cildin kuru ve pürüzlü bölgelerinde gelişir. Kırmızı veya siyahımsı sarı lekeler şeklinde görünür (117). Tedavisi, cerrahi eksizyon, Mohs mikroskopik cerrahi, elektrodesekeasyon ve küretaj, kriyoterapi, radyoterapi, fotodinamik terapi, topikal ajanların uygulanması ve sistemik kemoterapiyi içerir (121).

## 2.8. Melanom

Melanom, vücutta bulunabilen (deri, iris ve rektum dahil) nöroektodermal kökenli pigment üreten hücreler olan melanositlerin bir malignitesidir (122). Melanom, tüm dermatolojik kanserlerin yalnızca yüzde 4'ünü oluşturmasına rağmen, cilt kanserinden ölümlerin yüzde 80'inden sorumludur (123). Ölümcül bir cilt kanseri türü olmasına rağmen, melanom erken teşhis edilirse tedavi edilebilir (124).

Cilt kanserinin teşhisi için geleneksel yaklaşım ABCDE sistemidir. A, asimetrik şekil (Alanın yarısında diğer yarısı eşleşmez.); B, düzensiz sınır (Kenarlar düzensiz veya dağınıktır.); C alacalı renk (Renk her yerde aynı değildir ve birden fazla gölge veya renge sahip olabilir.), D, çapı 6 mm'den büyük boyut (Boyut bir kurşun kalem silgisinden daha büyüktür, 6 mm) ve E renkli lezyonda değişiklik (Leke; boyut, veya renk olarak değişiyor.) ile ilgili olan bir lezyonun beş temel özelliğini ifade etmektedir (124). Melanomu tanımlamada kullanılan ABCDE sistemi Şekil 2.7.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Melanomu tanımlamada kullanılan ABCDE sistemi.

### 2.8.1. Melanom Patogenezi

Melanom, dendritik morfolojiye sahip nöroektodermal kökenli hücreler olan melanositlerden kaynaklanan bir malignitedir. Melanositik transformasyonun, genetik ve moleküler değişikliklerin ardışık olarak birikmesiyle meydana geldiği düşünülmektedir. Melanomun gelişiminin, ilerlemesinin ve tedaviye direncinin altında yatan patogenetik mekanizmalar hala büyük ölçüde bilinmemekle birlikte, birkaç gen ve hücre sinyal yolağı ilişkilendirilmiştir. Bunlar arasında, üç ana genetik ağ çok önemli bir rol oynamaktadır: Sikline Bağımlı Kinaz İnhibitörü 2A (CDKN2A) güdümlü yol ve iki RAS güdümlü yol; Mitojenle Etkinleşen Protein Kinaz (MAPK) ve fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K)-AKT (125).

#### ***Sikline Bağımlı Kinaz İnhibitörü 2A (CDKN2A);***

CDKN2A geni, p16<sup>INK4A</sup> ve p14<sup>ARF</sup> proteinlerini kodlar. p16<sup>INK4A</sup> proteini, sikline bağımlı kinazlara, CDK4 ve CDK6'ya bağlanarak bunların Siklin D ile ilişkisini inhibe eder ve böylece CDK/Siklin D komplekslerinin oluşumunu engeller. Bu kompleksler, hücrenin G1 hücre döngüsü kontrol noktasında ilerlemesine izin verir. Böylece p16<sup>INK4A</sup>, bir tümör baskılayıcı görevi görür ve G1 fazındaki hücreleri durdurarak hücre büyümesini negatif olarak düzenler (126).

p14<sup>ARF</sup> proteini, MDM2 yoluyla hem p53 hem de retinoblastoma (Rb) yollarında etki eder. p14<sup>ARF</sup>, MDM2'ye bağlanır, onu nükleolde ayırır ve p53 veya Rb'ye bağlanmayı önler, bu da p53 aktivasyonuna ve hem G1 hem de G2'nin durmasına neden olur (126). Rb proteini, hücre döngüsünün negatif kontrolünde ve tümörün ilerlemesinde çok önemli bir rol oynayan bir tümör baskılayıcıdır (127). p53 proteini, hem hücre döngüsü ilerlemesini hem de apoptozu etkileyen bir gen ürünü örneğidir (128).

***RAS güdümlü yol: Mitojenle Etkinleşen Protein Kinaz (MAPK);***

RAS sinyal kaskadının, MAPK yolu ve PI3K yolu olmak üzere iki yol aracılığıyla çoğalmayı, hayatta kalmayı ve istilayı desteklediği bilinmektedir. NRAS, bu yolda aktive olduğu bulunan ilk bileşendir ve tüm melanomların %15-20'sinde mutasyona uğramıştır (129). RAS proto-onkogen ailesi, büyüme faktörlerine ve diğer hücre dışı uyaranlara yanıt olarak etkinleştirilen ve mitojenle etkinleştirilen protein kinaz (MAPK) gibi akış aşağı sinyal kaskadlarını indükleyen bir grup küçük Guanozin trifosfataz (GTPaz)'ı kodlar. Mutasyona uğradığında, onkojenik RAS tercihen aktif, GTP'ye bağlı durumda kalır ve GTPaz işleviyle GTP hidrolizinde kalır ve GTPaz'ı aktive eden proteinler gibi enzimler tehlikeye girer. Ortaya çıkan RAS aracılı sinyal kaskadları, örneğin proliferasyonu artırarak ve apoptozu baskılayarak ve aynı zamanda hücre metabolizmayı yeniden düzenleyerek ve tümör mikroçevresindeki değişiklikleri teşvik ederek anahtar hücre metabolizmasını serbest bırakarak tümörün başlatılmasını, sürdürülmesini ve ilerlemesini sağlar. Metabolizmanın RAS sinyali ile etkileşimi ile, glutamin metabolizmasının hedeflenmesi ayrıca melanom hücrelerinde MAPK inhibitörlerine karşı kazanılmış direnci baskılamaktadır (130).

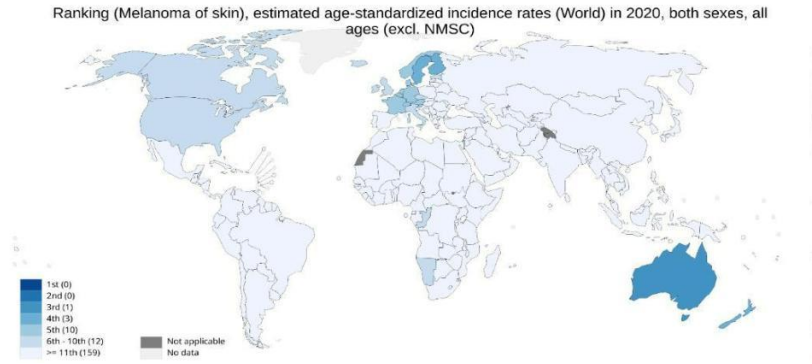
***RAS güdümlü yol: Fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K)-AKT;***

RAS ile aktivasyon, PI3K aktivasyonuna katkıda bulunmaktadır. PI3K sinyali, hücre-hücre adezyonunun stabilitesindeki değişiklikleri ve hücre motilitesinin düzenlenmesi için önemli sonuçlarla hücre-ekstrasellüler matriks etkileşimini kontrol eder. Uveal melanomda, PI3K yolu, hücre adezyon molekülleri E-kadherin ve b-katenin'in aşağı regülasyonu yoluyla artan motilitenin önemli bir aracıdır, böylece hücre-hücre adezyonunu zayıflatır ve tipik olarak bu kanser hücrelerinde görülen gelişmiş motiliteyi ve migrasyonu destekler (131).

## 2.8.2. Melanom Epidemiyolojisi

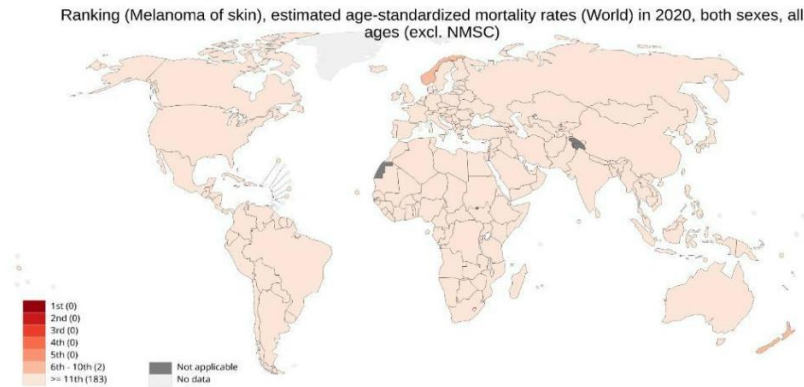
Melanom dünyada önemli bir halk sağlığı sorunudur. Etnik ve coğrafi faktörler ile insidansı değişmektedir. Erkeklerde kadınlardan yaklaşık 1,5 kat daha fazla görülmektedir. Avusturalya dünyada en yüksek melanom insidansına sahip ülke olup her yıl 11000'nin üzerinde olgu tanı almaktadır (132).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre 2020 yılında melanom insidansı Avusturalya'da 36.56, Yeni Zelanda'da 31.57, Danimarka'da 29.73 ve Hollanda'da 27.03'dür. Türkiye'de ise bu değer 1.73'dür (133). 2020'de melanom insidans oranına ait orijinal görüntü Şekil 2.8.'de verilmiştir.



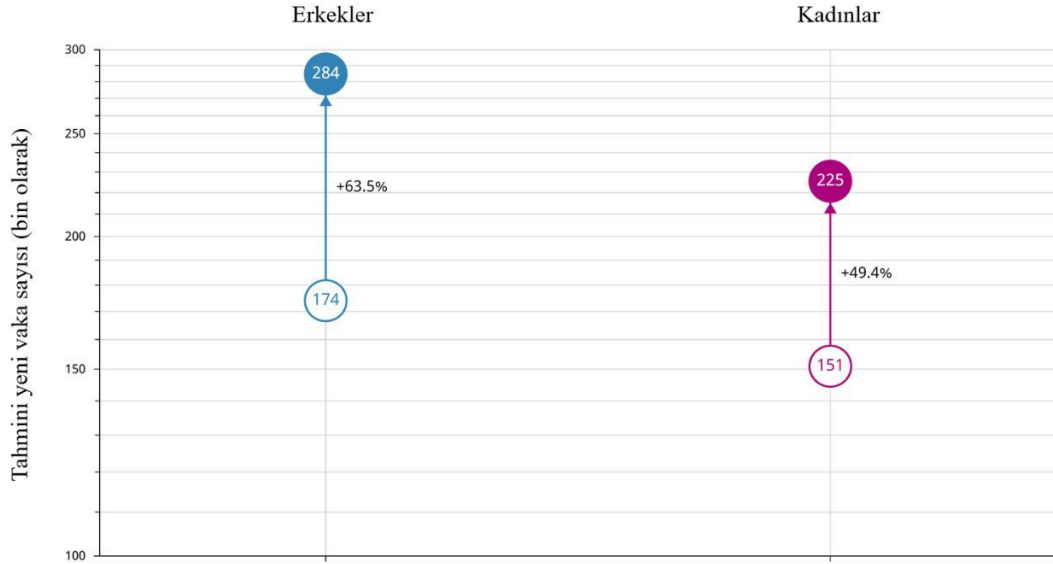
**Şekil 2.8.** 2020'de melanom insidans oranına ait orijinal görüntü (Dünya), (Erkek ve Kadın, yaş; 0-85+) (133).

DSÖ'ne göre 2020 yılında melanom ölüm oranı Yeni Zelanda'da 4.65, Karadağ'da 3.04, Norveçte 3.18 ve Avustralya'da 2.38dir. Türkiye'de ise ölüm oranı 0.83'tür (133). 2020'de melanom ölüm oranına ait orijinal görüntü Şekil 2.9.'da verilmiştir.



**Şekil 2.9.** 2020'de melanom ölüm oranına ait orijinal görüntü (Dünya), (Erkek ve Kadın, yaş; 0-85+) (133).

Dünya Sağlık Örgütü - Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC)'a göre tüm dünyadaki 2020'den 2040'a kadar tahmini yeni melanom vaka sayısı (Erkek ve Kadın, yaş; 0-85+) Şekil 2.10.'de ve Tablo 2.11.'de gösterilmiştir (133).

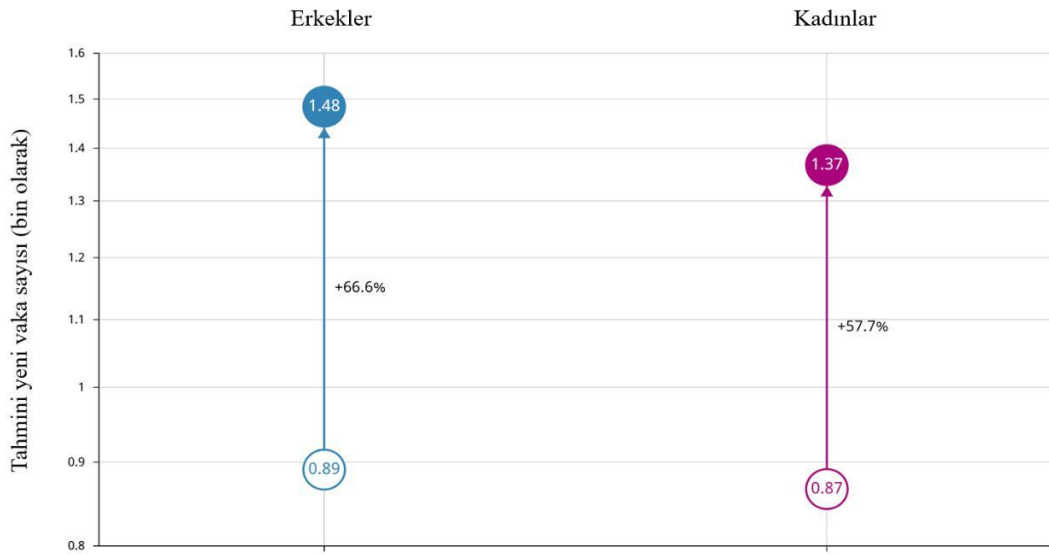


Şekil 2.10. Dünyada 2020'den 2040'a kadar tahmini yeni melanom vaka sayısı (133).

Tablo 2.11. 2020-2040 yılları arasında tüm dünyadaki tahmini vaka sayıları (DSÖ) (133).

Cinsiyet	2020'deki vaka	Yıl	Tahmin	Risk değişikliği	Risk yüzdesi (%)
Erkek	173844	2020	173844	0	0
	173844	2025	198895	25051	14.41
	173844	2030	226093	52249	30.0551
	173844	2035	255022	81178	46.6959
	173844	2040	284321	110477	63.5495
Kadın	150791	2020	150791	0	0
	150791	2025	168467	17676	11.7222
	150791	2030	187039	36248	24.0386
	150791	2035	206272	55481	36.7933
	150791	2040	225287	74496	49.4035

Dünya Sağlık Örgütü - Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC)'a göre Türkiye'de 2020'den 2040'a kadar tahmini yeni melanom vaka sayısı (Erkek ve Kadın, yaş; 0-85+) Şekil 2.11.'de ve Tablo 2.12.'de gösterilmiştir (133).



**Şekil 2.11.** Türkiye’de 2020’den 2040’a kadar tahmini yeni melanom vaka sayısı (133).

**Tablo 2.12.** 2020-2040 yılları arasında Türkiye’deki tahmini vaka sayıları (DSÖ) (133).

Cinsiyet	2020’deki vaka	Yıl	Tahmin	Risk değişikliği	Risk yüzdesi (%)
Erkek	890	2020	890	0	0
	890	2025	1010	120	13.4832
	890	2030	1146	256	28.764
	890	2035	1306	416	46.7416
	890	2040	1483	593	66.6292
Kadın	866	2020	866	0	0
	866	2025	976	110	12.7021
	866	2030	1096	230	26.5589
	866	2035	1229	363	41.9169
	866	2040	1366	500	57.7367

### 2.8.3. Melanom Tedavisi

#### *Cerrahi tedavi*

Primer ve lokorejyonal melanom için ilk tedavi cerrahidir (134). Uzak metastazların rezeksiyonu, medikal tedavi yerine cerrahi tedavi ile sağkalım yararı beklenebilecek hastalarda düşünülebilir. Cerrahi, tamamen çıkarılabilir oligometastatik hastalığı olan hastalarda sonuçları potansiyel olarak iyileştirebilir (135).



### ***Kemoterapi***

Kemoterapi Şu anda üç ana klinik ortamda kullanılmaktadır; Birincisi, ilerlemiş hastalık veya kanserler için birincil indüksiyon tedavisi başka etkili tedavi yaklaşımı olmayan; ikincisi, cerrahi veya radyasyon veya her ikisi gibi lokal tedavi biçimlerinin kendi başlarına yetersiz kaldığı, lokalize hastalığı olan hastalar için neoadjuvan tedavi; üçüncüsü, cerrahi, radyasyon tedavisi veya her ikisi de dahil olmak üzere lokal tedavi yöntemlerine adjuvan tedavidir (136). Melanoma karşı ilaçlar ve ajanlar; DNA'yı alkilleyerek kanser hücrelerinin büyümesini engelleyen kemoterapidir. Bunlara örnek olarak dakarbazin ve temozolomid verilebilir (129).

### ***Adjuvan tedavi***

Cerrahi rezeksiyonun ardından evre III ve IV melanomlu hastalar için adjuvan tedavi kademeli olarak onaylanmıştır. Tümörün tam çıkarılmasından sonra, bu hastalar adjuvan tedaviden önemli fayda sağlayabilir. Çıkarılmayan ilerlemiş veya metastatik melanomlu hastaların uzun süreli sağkalımını iyileştiren yeni tedaviler, Şu anda nüksüz sağkalımı ve genel sağkalımı artırmak için adjuvan tedavide değerlendirilmektedir. En uygun adjuvan için radyoterapi, sistemik immünoterapiler, moleküler hedefli terapiler örnek olarak verilebilir (137).

#### ***- Radyoterapi***

Birçok melanom hücre dizisi, yaygın olarak radyoterapi ile başarılı bir de tedavi edilen diğer tümörler kadar radyosensitiftir. Radyoterapi kullanımı, normal dokuların yeterli düzeyde korunmasıyla tümör hücrelerine bir tümörisidal dozun uygulanmasıyla sonuçlanan dikkatli bir planlama gerektirir. Radyoterapi primer tedavi, rezeksiyon sonrası adjuvan tedavi ve semptomatik melanomun palyasyonu için kullanılmaktadır (138).

#### ***- İmmünoterapi***

##### ***İnterferon (IFN)***

IFN, melanom hücrelerinin proliferasyonunu da inhibe eder (139). Evre IIB/III'deki melanom hastaları için yüksek doz İnterferon-a2b (IFN-a2b) adjuvan tedavisi, ECOG1684 çalışmasında hem nüksüz hayatta kalma hem de toplam sağkalım üzerinde faydalar göstermiştir. Yüksek doz IFN-a2b, 1996 yılında ABD, FDA tarafından yüksek riskli melanom tedavisi için adjuvan tedavi olarak onaylanmıştır (140).

*Bağışıklık kontrol noktası inhibitörleri*

*CTLA-4 (Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4, Sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen 4) karşıtı kontrol noktası inhibitörleri*

CTLA-4, T hücresi aktivasyonunun negatif geri besleme kontrol faktörüdür. Anti-CTLA-4 antikorları, antitümör immün reaksiyonlarını teşvik etmek için T hücrelerine giden düzenleyici sinyali bloke eder ve düzenleyici T hücrelerinin aktivitesini inhibe eder.

2011 yılında ipilimumab (4 doz için 3 mg/kg her 3 haftada bir), FDA ve Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından gp100 aşısı ile karşılaştırıldığında ipilimumab'ın rezeke edilemeyen veya metastatik melanom tedavisi olarak onaylanmıştır (140).

*Anti-PD-1 (Programmed death-1, programlanmış ölüm-1) kontrol noktası inhibitörleri*

Hücre yüzeyi PD-1 reseptörü, T hücreleri üzerinde eksprese edilir ve bağışıklık fonksiyonlarını negatif olarak düzenler. Anti-PD-1 antikorları, PD-1/PD-L1 bağlanmasını bloke ederek tümörlere karşı immün yanıtı güçlendiren, PD-1 reseptörüne yönelik monoklonal antikorlardır. 2014 yılında nivolumab ve pembrolizumab, kemoterapi veya ipilimumab ile karşılaştırıldığında önemli etkinliklerini gösteren çalışmalara dayanarak FDA ve EMA tarafından rezeke edilemeyen veya metastatik melanomun tedavisi için onaylandı (140).

*Moleküler hedefli tedaviler*

RAS/RAF/MEK olarak da bilinen MAPK için sinyal iletim yolunun düzensizliği, melanom da dahil olmak üzere birçok insan kanserinde önemli bir rol oynar. Yapısal aktivasyonuna yol açan MAPK yolundaki baskın mutasyonlar, BRAF (sitoplazmik serin/treonin protein kinaz)'taki mutasyonlardır. Tüm maligniteler arasında, BRAF'taki aktive edici mutasyonlar en yüksek sıklıkta (%27-68) melanomlarda mevcuttur. Melanomdaki tüm BRAF mutasyonlarının çoğunluğundan (%60-%100) sorumlu olan mutasyon, 600 pozisyonunda (V600E) valin yerine bir glutamat içerir. Bu, MAPK'nın aşağı akış aktivasyonuna ve nihayetinde melanomun çoğalmasına ve hayatta kalmasına neden olur. Bu nedenle BRAF V600E, melanom tedavisi için moleküler hedefi temsil eder.

Dabrafenib, Faz I/II çalışmalarında metastatik melanomlu hastalarda anlamlı aktivite gösteren başka bir selektif BRAF inhibitörüdür. BRAF inhibitörleri vemurafenib ve dabrafenib'in beyin metastazı olan hastalarda yarar gösteren ilk tedavi seçenekleridir (141).

### ***Neoadjuvan***

Neoadjuvan, ameliyattan önce veya radyasyon tedavisinden önce uygulanan kemoterapidir (142). Neoadjuvan tedavinin melanom hastalarındaki önemli etkisi, bölgesel hastalığın kontrolünü ve cerrahi olarak çıkarılmasını iyileştirmektedir. Kemoterapi ve immünoterapinin bir kombinasyonudur ve genellikle dakarbazin ve IFN- $\alpha$ 2b veya interlökin-2'yi içerir (140).

## **2.9. Yara İyileşmesi ve Kanser İlişkisi**

Fibroblastlar, hem yara iyileşmesinde hem de tümör stromasında rol alan bir hücre tipidir. Fibroblastlar, yaralanma sonrası doku onarımı için kritik öneme sahiptir ve yara kontraksiyonunda, granülasyon dokusunun birikmesinde, ECM bileşenlerinin üretiminde ve doku yeniden modellenmesinde rol oynar. Tümörlerde fibroblastlar, kanser hücreleri ve parakrin sinyal ile doğrudan temas yoluyla mikroçevreyi etkiler, neoplaziye karşı bağışıklık yanıtını düzenler, çeşitli ECM bileşenlerini depolar, neoanjiyogenezi uyarır ve tümörün ilerlemesi için bir yapı iskelesi sağlar (143).

$\alpha$ -kemokin ailesinin bir üyesi olan Melanom büyüme uyarıcı aktivite (MGSA), çeşitli dermal ve epidermal hücreler tarafından üretilir ve parakrin ve otokrin tarzda hareket edebilir. MGSA'nın yara iyileşmesindeki önemi hakkında bir çalışma yapılmıştır ve bu çalışmada yanık kabarcıkları ve donör bölgesi yara sıvılarındaki MGSA protein seviyeleri ölçülmüştür. Kabarcık sıvıları 0.79 ng/mL MGSA içermektedir. 1. günden 5. güne kadar donör bölgesi sıvılarında, postoperatif 5. günde ortalama seviyeler 1.77 ila 103 ng/mL arasında değişen önemli miktarda MGSA bulundu; bu, artan tümör nekroz faktörü  $\alpha$  miktarlarıyla ilişkilidir. Ayrıca topik olarak uygulanan MGSA'nın (50 ng/cm<sup>2</sup>) atimik fareler üzerinde ağı bölünmüş kalınlıkta insan derisi greftlerinin iyileşmesi üzerindeki etkisini de incelenmiştir. Bu yaralarda MGSA, epitelizasyon oranını uyarmıştır ve mitotik keratinosit oranının arttığı gözlemlenmiştir. Yara kontraksiyonu, MGSA ile tedavi edilen grupta 7. ve 14.

günlerde önemli ölçüde azalmıştır. Bu sonuçlar, MGSA'nın keratinosit proliferasyonunu uyararak yara iyileşmesine katkı sağladığını göstermektedir (144).

Histatinler ve özellikle histatin-1, oral keratinositlerde, diş eti ve dermal fibroblastlarda, oral olmayan epitel hücrelerinde ve endotel hücrelerinde hücre adezyonunu ve göçünü destekler. Bu özellikle alakalı, histatin-1, epitel ve endotel hücre göçünü artırarak yeniden epitelizasyon fazını ve anjiyojenik tepkileri teşvik eder. Bir çalışma, Histatin-1'in melanom hücre hatlarında ve klinik numunelerde yüksek oranda eksprese edildiğini göstermiştir, bu da onun bu malignite için potansiyel bir prognostik belirteç olduğunu göstermektedir (145).

## 2.10. Yara İyileşmesinde ve Cilt Kanserinde Kullanılan Ürünler

### 2.10.1 Yara İyileşmesinde Kullanılan Ürünler

#### *Yara İyileşmesinde Kullanılan Sentetik Kimyasal Maddeler*

*2-benzazepin türevlerinin* yara iyileştirici etkileri vardır (146).

*Fenitoinin*, topikal fenitoinin dekübit ülserlerinin, venöz staz ülserlerinin, diyabetik ülserlerin, travmatik yaraların, yanıkların ve cüzzamlı trofik ülserlerin iyileşmesinde etkilidir (147).

*n-bütül-siyanoakrilat* cilt yaralarında ödem, iltihaplanma ve granülasyon dokusu miktarının büyük ölçüde azalmasını sağlar (148).

Yapılan bir çalışmada *2-oktil siyanoakrilat*, geleneksel yara kapanmasına kıyasla, Total diz artroplastisisonrası yara sızıntısı, yara ayrılması, gecikmiş yara iyileşmesi ve yüzeysel enfeksiyon insidansını azalttığı gösterilmiştir (149).

Güçlü antioksidan özelliklere sahip sentetik E vitamini analogu olan *raksofelast*, yara iyileşmesini uyaraktadır ve deneysel yanık yaralarında yara iyileşmesini geliştirerek lipid peroksidasyonunu inhibe etmiştir (150).

*Nitrik oksit (NO)*, hücrel ve fizyolojik seviyelerde etki gösteren kısa ömürlü bir serbest radikaldir ve yara iyileşme sürecinde önemli bir unsurdur (151). NO'nun yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkileri, anjiyogenez, inflamasyon, hücre proliferasyonu, matriks birikimi ve yeniden lenme üzerindeki fonksiyonel etkilerine bağlanabilir (152).

*Molsidomin*, yara iyileşmesinde inflamasyonu modüle eden NO donörüdür (153).

Yapılan bir çalışmada yara onarımının erken evresinde NO donörü olan *S-nitrosoglutasyonun* topikal uygulamasının, yara kontraksiyonunu ve yeniden epitelizasyonu iyileştirerek ve hızlandırarak sıçan kutanöz yara onarımını hızlandırdığını göstermektedir. (154).

### ***Yara İyileşmesinde Kullanılan Doğal Ürünler***

Nükleik asitler, amino asitler, karbonhidrat, yağ vb. gibi birincil (primer) metabolitlerden ayrılan, bitkilerden elde edilen ikincil metabolitler son derece çeşitlidir. İkincil (sekonder) metabolitler genellikle birincil metabolitten modifiye edilmiş sentetik yollar ile oluşturulabilir veya birincil metabolit orijinli substratları paylaşabilir. İkincil metabolitler terpenoidler, alkaloidler ve fenolikler olarak sınıflandırılır. Glikozitler, tanenler ve saponinler, spesifik yapılarına göre bunların bir parçasıdır (155).

### ***Terpenoidler***

Sekonder metabolitler arasında terpenoidler, kimyasal yapıları bağlamında önemli özelliklere sahip en çeşitli olanlardır. Bu bileşikler, beş karbonlu öncü molekül olan izoprenden ( $C_5H_8$ ) ve bunun fonksiyonel izomeri dimetilalil pirofosfattan sentezlenir (156). Geleneksel olarak uçucu yağların  $C_{10}$  bileşikleri "terpenler" ve daha sonra "monoterpenler ( $C_{10}H_{16}$ )" olarak adlandırılır. Terpenoid ailesinin diğer üyeleri, hemiterpenler ( $C_5H_8$ ), seskiterpenler ( $C_{15}H_{24}$ ), diterpenler ( $C_{20}H_{32}$ ), triterpenler ( $C_{30}H_{48}$ ), tetraterpenler ( $C_{40}H_{56}$ , başlıca karotenoidler) ve politerpenler (yüksek moleküler ağırlıklı)'dir (157).

Çay ağacı yağı, Avustralya yerli bitkisi *Melaleuca alternifolia*'dan buharla damıtılmış uçucu bir yağdır. Minimum terpinen-4-ol içeriğine ve maksimum 1,8-sineole içeriğine sahiptir. ***Terpinen-4-ol***, güçlü antimikrobiyal ve antiinflamatuvar özellik sergileyen önemli bir çay ağacı yağı bileşenidir. Ayrıca yara iyileşme sürecini hızlandırır (158).

*Gentiana lutea* L. bitkisinin köklerinde bulunan sekoiridoid glikozitleri ve *Melaleuca alternifolia* bitkisinin uçucu yağ formları yara bakımında kullanılmaktadır (159).

*Anredera diffusa*'dan, elde edilen ***oleanolik asit***, geleneksel Peru tıbbında yara iyileştirici olarak kullanılır (160).

*Peperomia galioides* Kunth, aromatik bir bitkidir ve Brezilya'da halk arasında "língua-de-sapo" olarak bilinir. Peru'da yara iyileştirici olarak kullanılır. Liyofilize ekstraktların ve bu ekstraktların izole edilmiş bir bileşiği olan (+)-*epi-abisabololün* iyileştirici özelliğini değerlendirildi ve bu seskiterpenin biyolojik aktiviteden sorumlu olduğu gösterilmiştir (161).

### ***Saponinler***

Saponinler uçucu olmayan, yüzey aktif bileşikler olup hidroliz olduğunda bir triterpen veya steroid yapıda aglikon ile bir veya daha fazla glukoz, glukuronik asit gibi şeker zinciri içeren yapıları taşır (162-164). Steroidal sapogeninler 6 halkalı bir spirostan veya 5 halkalı bir furostan iskeletine sahip olabilirken, yapısal olarak çok daha çeşitli olan triterpenoid sapojeninlerde, temel halka sistemi çoğunlukla beş veya daha nadiren dört halkadan oluşur (165).

*Panax notoginseng* fibroblastlar üzerindeki anti-proliferatif etkisinden dolayı yara iyileşmesini sağlamaktadır. Kırmızı ginseng kökünden yüksek yara iyileştirme aktivitesine sahip altı ginsenosid izole edilmiştir. Bunlar, *Ginsenosid Rb1*, *Ginsenosid Rb2*, *Ginsenosid Rc*, *Ginsenosid Rd*, *Ginsenosid Re*, *Ginsenosid Rg1*'dir. ***Ginsenosid Rb 1*** yanık yarasının iyileşmesini de arttırmaktadır (166, 167).

*Aloe vera*, bir saponin olan ***aloegenin*** içerir ve bu da yara iyileştirmede etkindir (168).

### ***Alkaloidler***

Alkaloidler, heterosiklik halkada nitrojen atomuna sahip olan ve amino asitlerden türetilen, yapısal olarak çeşitlendirilmiş bileşiklerin önemli bir sınıfını oluşturur. Bu bileşikler düşük moleküler ağırlıklı yapılardır ve bitkisel ikincil metabolitlerin yaklaşık %20'sini oluştururlar (169). Biyosentetik öncüleri ve heterosiklik halka sistemleri temelinde, bileşikler indol, piperidin, tropan, pürin, pirolizidin, imidazol, kuinolozidin, izokinolin ve pirolidin alkaloidlerini içeren çeşitli kategorilerde sınıflandırılmıştır (170).

*Fumaria parviflora* L. izokinolin alkaloidlerinin insan derisi fibroblastına karşı sitotoksitesi ve *in vitro* kullanılarak yara iyileştirici aktivitesi görülmüştür (171).

*Aconitum baikalense*'den elde edilen alkaloidler (***napelin, songorin, mesakonitin, hipakonitin, 12-epinapelin, N-oksit***) fibroblast artışı ve cilt yenilenmesi üzerinde etkilidir (172).

***Taspin***, batı Amazon bölgesindeki Croton (Euphorbiaceae familyası) ağaçlarından elde edilen alkaloidtir. Yara iyileşmesinin erken evrelerini etkilemektedir (173). Bu alkaloid, fibroblast tarafından dönüştürücü büyüme faktörü-beta1 (TGF-beta1) ve epidermal büyüme faktörünün otokrinini artırarak yara iyileşmesini artırır (174).

### ***Fenolikler***

Fenolikler, rapor edilen 10.000'den fazla molekül ile bitkilerde bulunan en önemli ikincil metabolit gruplarından biridir. Fenolikler, ağırlıklı olarak fenilalanin olmak üzere aromatik amino asitlerden sentezlenir ve bu nedenle, bir veya daha fazla hidroksil grubunun bağlı olduğu en az bir aromatik halkaya sahip olmaları ile karakterize edilmektedir (175).

Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidlerden oluşan temel yapılarına göre sınıflandırılabilir (176). Ayrıca fenolik maddeler çok çeşitli kimyasal bileşikler grubudur. Bu bileşikler çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir. Buna göre C<sub>6</sub> basit fenolikler, C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> fenolik asitler, C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub> asetofenonlar ve fenilasetik asit, C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> Sinamik asitler, sinnamil aldehitler ve sinnamil alkoller, C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> kumarinler ve izokumarinler, C<sub>15</sub> kalkonlar, auronlar, dihidrokolonlar, C<sub>15</sub> flavanlar, C<sub>15</sub> flavonlar, C<sub>15</sub> flavanonlar, C<sub>15</sub> flavanonollar, C<sub>15</sub> antosiyanidin, C<sub>15</sub> antosiyanin, C<sub>30</sub> biflavonil, C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> ve C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> benzofenonlar, ksanton, stilbenler, C<sub>6</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>14</sub> kinon, C<sub>18</sub> betasiyanin, lignan ve neolignanlar yapısını içerenler dimer veya oligomerler, lignin yapısını içerenler polimerler, tanen yapısını içerenler oligomerler veya polimerler ve filobafenler yapısını içerenler polimerler sınıfındadır (177).

*Chromolaena odorata* L.'dan elde edilen ekstrakta fenolik asitler (***protokateşik, -hidroksibenzoik, p-kumarik, ferulik ve vanilik asitler***) ve lipofilik flavonoid aglikonların (flavanonlar, flavonoller, flavonlar ve kalkonlar) kompleks karışımları bulunmaktadır. *C. odorata*'dan elde edilen ekstrakt, yara iyileşmesine katkıda bulunan potansiyel mekanizmalardan biri olabilecek güçlü antioksidan bileşiklerin bir karışımını içerir (178).

*Achillea kotschy* Boiss. subsp. *kotschy*'de önemli antioksidan, sitotoksik aktivitelere sahip flavonoidler (**hiperosid, apigenin, hesperidin, rutin, kemferol ve luteolin ve klorojenik asit**) bulunmaktadır (179).

Yapılan bir çalışmaya göre *Bletilla striata*'nın sadece polisakarit bileşimi nedeniyle değil, aynı zamanda polifenol aktivitesi nedeniyle de yara iyileşmesini desteklemektedir (180).

Geleneksel tıpta yara iyileşmesinde kullanılan *Achillea millefolium* L., *Hyssopus officinalis* L., *Equisetum arvense* L. ve *Echinacea purpurea* L. adlı bitkilerin etanol ekstraktları araştırılmıştır. Bu karışım genel olarak fenolik asit (**gallik asit, klorojenik asit, kafeik asit, kumarik asit ve ferulik asit**) ve flavonoid (**rutosid, mirisetin, luteolin, kersetin ve apigenin**) içermektedir (181).

*Potentilla erecta*'da 17 adet standart fenolik bileşik (**gallik asit, protokatesik asit, klorojenik asit, p - OH benzoik asit, kafeik asit, vanilik asit, siringik asit, ellagik asit, rutin, p-kumarik asit, ferulik asit, mirisetin, fisetin, kersetin, apigenin, kaempferol ve isorhamnetin**) bulunmaktadır ve diyabetik yarada kullanılmaktadır (182).

**Embelin**, *Embelia ribes* bitkisinin etanol ile ekstraktından elde edilen bir kinondur. Embelinin yara iyileştirme aktivitesi olduğu görülmüştür (183).

**Emodin**, yara iyileşmesi için yaygın olarak ve geleneksel olarak kullanılan *Rheum officinale* Baill'in köklerinden elde edilen bir antrakinon türevidir (184).

Yara iyileşmesinde kullanılan sentetik ve doğal ürünler Tablo 2.13.'de özetlenmiştir.

**Tablo 2.13.** Yara iyileşmesinde kullanılan ürünler.

Yara İyileşmesinde Kullanılan Ürünler		
Doğal Ürünler		Sentetik Kimyasal Maddeler
<b>Terpenoidler</b>	<b>Kinonlar</b>	2-benzazepin türevleri
Asiatik asit	Embelin	Fenitoin
Madekassik asit	Emodin	2-oktil-siyanoakrilat
Asiatikosid	<b>Alkaloidler</b>	n-bütül-siyanoakrilat
Oleanolik asit	Taspin	Raksofelast
(+)-Epi- $\alpha$ -bisabolol	<b>Saponinler</b>	Nitrik oksit
$\alpha$ -bisabolol	Ginsenosid Rb1	Molsidomin
$\alpha$ -terpineol	Ginsenosid Rc	S-nitrosoglutatyon
Trans-nerolidol		
Trans,trans-farnesol		



### ***Yara Temizleme Ajanları***

Yara temizleme işlemi, yara iyileşmesi için optimal bir ortam yaratmak amacıyla ölü veya hasarlı dokulardan kaynaklanan organik atıkları, yara eksüdasını ve metabolik atıkları uzaklaştırmak için toksik olmayan bir sıvının uygulanmasıdır. Sorunlu aşırı dokuların dışına çıkan kan sıvısı (eksüda) olduğunda, eksüda açıkça enfekte olduğunda, yabancı cisim kontaminasyonunda, kir veya bakteri tarafından büyük kontaminasyon olduğunda ve kabuklu veya nekrotik doku mevcut olduğunda bir yaranın temizlenmesi gerekmektedir.

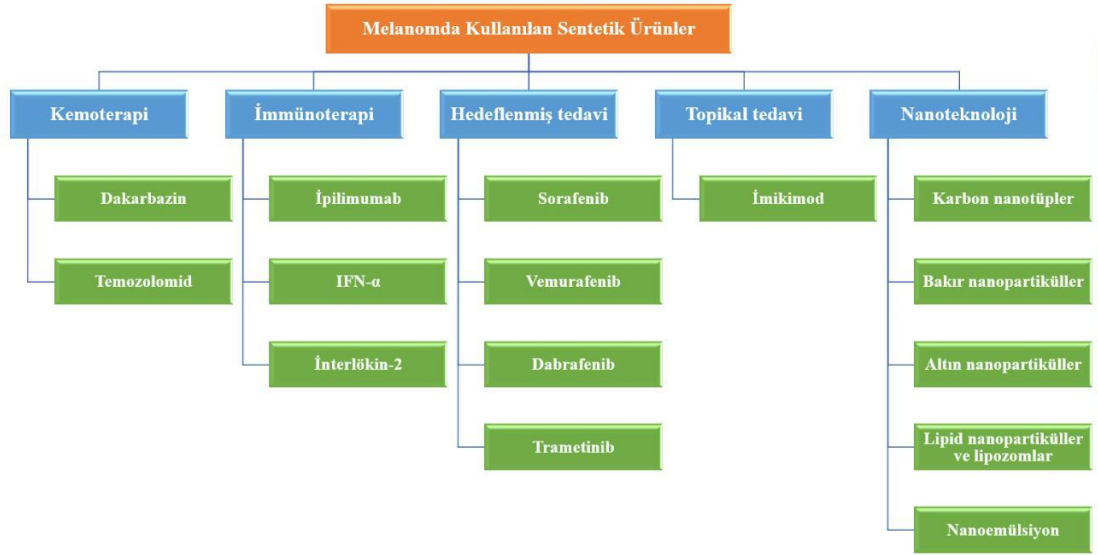
Antiseptik özelliklere sahip müstahzarlar çoğunlukla kullanılmaktadır (185, 186). Alkoller (etanol), anilidler (triklokarban), biguanidler (klorheksidin), bisfenoller (triklosan), klor bileşikleri, iyot bileşikleri, gümüş bileşikleri, peroksijenler ve kuaterner amonyum bileşikleri dahil olmak üzere çeşitli antiseptik kategoriler mevcuttur. Günümüzde klinik pratikte en sık kullanılan ürünler povidon-iyot, klorheksidin, alkol, asetat, hidrojen peroksit, borik asit, gümüş nitrat, gümüş sülfadiazin ve sodyum hipoklorittir (187).

Çoğu durumda, yara yüzeyini temizlemek için su veya tuzlu su yeterlidir. Yara ile temizleme solüsyonu arasındaki sınırlı temas süresi nedeniyle solüsyonun izotonik (%0,9 sodyum klorür) olması şart değildir. Musluk suyu, uygun şekilde işlenmiş bir içme kaynağından geliyorsa temizlik için kullanılabilir (188).

### **2.10.2 Melanomda Kullanılan Ürünler**

#### ***Melanomda Kullanılan Sentetik Ürünler***

Melanom için cerrahi ve radyasyon tedavisi dahil olmak üzere geleneksel tedavilerin dışında, kemoterapi önemli bir rol oynamaktadır. Melanomda kullanılan sentetik ürünler Şekil 2.12.'de verilmiştir (129).



Şekil 2.12. Melanomda kullanılan sentetik ürünler (129).

### ***Kemoterapi***

#### ***- Dakarbazin***

Dakarbazin, ilerlemiş metastatik melanomun tedavisi için en aktif tek ajandır ve uzun süredir bu malignite için standart kemoterapi olarak kullanılmaktadır. Dakarbazin, nükleik asitlerin metilasyonu ile büyümenin durması ve hücre ölümüyle sonuçlanan DNA hasarına neden olur (189). Dakarbazin, doğal öldürücü hücrelerin ve T hücrelerinin lokal aktivasyonunu indükleyerek immüno-uyarıcı etkiler göstermektedir (190).

#### ***- Temozolomid***

Temozolomid, imidazotetrazinler olarak bilinen bir alkilleyici madde arasında yer alır. Kan ve dokuların hafif bazik pH'ı ile temas ettiğinde, temozolomid kendiliğinden aktif metabolit metiltiazenoimidazol karboksamide hidrolize uğrar ve bu, reaktif metildiazonyum iyonunu oluşturmak için hızla parçalanır. Metildiazonyum iyonu, öncelikle DNA molekülündeki guanin kalıntılarını metilleyerek O6- ve N7-metilguanin oluşumuna neden olur. O6-metilguanin oluşumu, temozolomid ve dakarbazinin sitotoksik etkilerinden sorumludur. DNA uyumsuzluğu onarım enzimleri, O6-metilguanin'i çıkarmaya çalıştıklarında, DNA'da tek ve çift sarmallı kırılmalar oluşturarak apoptotik yolların aktivasyonuna yol açarlar (191).

### ***İmmünoterapi***

#### ***- İpilimumab***

İpilimumab, sitotoksik T-lenfosit antijen-4'ü hedef alan ve böylece antitümör immün yanıtlarını artıran insan monoklonal bir antikordur. Sitotoksik T-lenfosit antijen-4, endojen T hücresi aracılı yanıtların anahtar negatif düzenleyicisidir, doğal bir fren mekanizması olarak işlev görür ve bir bağışıklık tepkisini takiben homeostaza geri dönüşe izin verir (192).

#### ***- IFN-a***

Moleküler seviyede, IFN-a'nın, antianjiyojenikten güçlü immün düzenleyici, farklılaşmaya neden olan, antiproliferatif ve proapoptotik etkilere kadar değişen çeşitli malignitelere çoklu etkileri vardır. Tümör immünojenisitesini teşvik etme ve tümöre dendritik hücre tepkisini artırma, dendritik hücre polarizasyonu veya olgunlaşması, hayatta kalma ve antitümör bağışıklığına yol açan önemli etkileri vardır. IFN- $\alpha$ , hücre aracılı sitotoksisiteyi arttırarak, tümörlere karşı konakçı bağışıklığında bir yardımcı T-1 hücresi kaymasında ve yardımcı T-1 hücresi lenfositlerin tümöre ulaşmasında önemli bir rolü vardır (193).

#### ***- İnterlökin-2***

İnterlökin-2 bir T-hücresi büyüme faktörü olarak tanımlanır ve yardımcı T-1 hücrelerinin ana ürünüdür. Preklinik çalışmalarda, rekombinant interlökin-2'nin, tek başına veya lenfokinle aktive olan öldürücü hücreler veya tümör infiltre eden lenfositlerin varlığında tümörlerin gerilemesine neden olduğu kaydedilmiştir (194).

### ***Hedeflenmiş Tedavi***

#### ***- Sorafenib***

Sorafenib, vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörleri vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü 1,2,3 ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü dahil olmak üzere çoklu kinazı hedefleyerek tümör proliferasyonunu inhibe eden ve fms geni ile ilgili reseptör tirozin kinaz 3'ü inhibe ederek tümör ilerlemesini hedefleyen, oral olarak kullanılabilen çoklu kinaz inhibitörüdür (195).

#### ***- Vemurafenib***

Vemurafenib, mutasyona uğramış BRAF'ın güçlü bir küçük molekülü inhibitörüdür. BRAF V600E mutasyonuna sahip melanom hücre hatlarına karşı belirgin antitümör etkilere sahiptir (196).

- *Dabrafenib*

Kutanöz melanomların %50'si BRAF'ta mutasyonlara sahiptir ve bu da mitojenle aktive olan protein kinaz sinyal yolunun yüksek aktivitesine neden olur. Dabrafenib, BRAF V600E ve BRAF V600K genotipleri ile melanomlarda mutant BRAF proteinini inhibe eder (197).

- *Trametinib*

Trametinib, BRAF V600 mutasyonu taşıyan metastatik melanoma karşı antikanser aktiviteye sahip, geri dönüşümlü ve oldukça seçici bir mitojenle aktive olan protein kinaz 1 ve 2 allosterik inhibitörüdür (198).

***Topikal Tedavi***

- *İmikimod*

İmikimod, dendritik hücreler ve periferik kan mononükleer hücreleri üzerinde toll-like reseptör 7 için güçlü bir agonist olarak bağlanır ve işlev görür. Bağışıklığın T yardımcı-1 lenfosit ağırlıklı antitümör ve antiviral immün yanıtını artırır. Adenozin reseptör sinyal yolu ile imikimod aracılı girişim proinflamatuvar sitokinlerin yukarı regülasyonunu artırır. İmikimodun ayrıca kaspaz aktivasyonu yoluyla, proapoptotik bir kayma ile tümör hücrelerinin apoptozunu indüklediği gösterilmiştir. Son olarak, imikimodun antianjiyojenik bir ajan olduğu ve özellikle bazal hücreli karsinom ve melanom gibi anjiyogeneze bağımlı neoplazmlarda antitümör etkisini daha da arttırdığı bulunmuştur (199).

***Nanoteknoloji***

Nanotaşıyıcılar yardımıyla melanom hedefli ilaç iletimi, terapötik ilaçların tümör dokularında yüksek derişimlerde birikmesine izin verir, ilaç yüklü nanopartiküllerin tümör hücreleri tarafından alınımı ve içselleştirilmesini kolaylaştırır, ciddi yan etkilere yol açabilecek hedef dışı dağılımı önler. Ek olarak, kemoterapötik ilaçlar, metaller veya manyetik parçacıklar, proteinler, nükleik asitler ve aşılardan gibi terapötik ajanların dahil edilmesi, metastatik melanomun klinik tedavisi için ideal bir dağıtım sistemi oluşturur (200).

***Melanomda Kullanılan Doğal Ürünler***

***Kurkumin***, anti-kanser etkileri de dahil olmak üzere çeşitli farmakolojik aktiviteler gösteren doğal bir polifenoldür. Kurkumin'in anti-kanser etkileri, anti-anjiyojenik, pro-apoptotik ve immünomodülatör özelliklerinin bir sonucudur. Her ne

kadar *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar, kurkumin ve analoglarının melanomda yeni terapötik ajanlar olarak kullanılabilirliğini göstermiş olsa da kurkumin klinik uygulamada henüz melanoma karşı test edilmemiştir (201).

**Berberin**, bir izokinolin alkaloididir, berberin kaynaklı bir Aktive edilmiş protein kinaz (AMPK) aktivasyonu ile Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) aktivitesinde ve siklooksijenaz-2'nin (COX-2) protein seviyelerinde azalma yoluyla melanom hücrelerinin metastatik potansiyelini inhibe etmektedir (202).

**Harmin**, *Peganum harmala* bitkisinden elde edilen bir beta-karbolin alkaloididir. B16-F10 melanomunda Kaspaz-8 ve BH3 etkileşimli alan ölüm agonistini yukarı regüle ederek, içsel ve dışsal apoptoz yollarını aktive etmiştir (203).

*Ipomoea obscura*'dan izole edilen bir indol alkaloid fraksiyonu olan **ipobskurin**'in B16-F10 melanom kaynaklı metastatik nodüllerin oluşumunu azaltabileceği ve B16-F10 melanom hücrelerinin *in vitro* çoğalmasını, göçünü ve istilasını engelleyebileceği gösterilmiştir (204).

Patates filizlerinde doğal olarak oluşan bir steroidal glikoalkaloid olan  **$\alpha$ -solanin**'in metastaz üzerindeki etkisini *in vitro* olarak incelenmiştir.  $\alpha$ -solanin'in insan melanom hücre dizisi A2058'in proliferasyonunu doza bağlı bir şekilde inhibe ettiği görülmüştür (205).

*Boerhaavia diffusa*'dan izole edilen bir alkaloid olan **punarnavin**'in B16-F10 melanom hücrelerinde apoptoz üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. NF-kB Sinyalini Engelleyerek B16F-10 melanom hücrelerinde apoptozu indüklediği görülmüştür (206).

Soya fasulyesinden izole edilen bir izoflavon olan **genistein**'in uveal melanom hücre büyümesinin zaman ve doza bağlı bir şekilde önemli ölçüde inhibe edildiği görülmüştür (207).

*Hibiscus sabdariffa*'dan elde edilen fenolik yapıya sahip olan **antosiyenin**'in B16-F1 melanom hücrelerinde hücre göçünü önemli ölçüde engellediği, Rho ailesinin, Ras/MAPK'nin ve PI3K/Akt sinyalinin aşağı regülasyonu yoluyla melanom göçünü ve anjiyogenez gelişimini inhibe ettiği görülmüştür (208, 209).

*Silybum marianum*'dan elde edilen bir bitki flavanoid karışımı olan **silimarin**'in insan melanom hücre dizilerinin tedavisinde,  $\beta$ -katenin nükleer birikimini azaltırken, sitosolik  $\beta$ -katenin birikimi ile ilişkili hücre göçünün

derişimine bağlı inhibisyonu ile sonuçlandığı ve insan melanom hücre migrasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur (210).

Polifenol yapılı **apigenin** ve **kersetin**'in B16-BL6 melanom hücrelerinin *in vivo* büyümesi ve metastatik potansiyeli üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Melanom büyümesini ve metastatik potansiyeli inhibe ettiği görülmüştür (211).

*Camellia sinensi*'dan elde edilen bir bitki flavanoidi olan **kateşinlerin** insan melanom hücrelerinin invaziv potansiyeli üzerindeki etkisi ve bu etkilerin altında yatan moleküler mekanizmaları A375 (BRAF mutasyona uğramış) ve Hs294t (BRAF olmayan) kullanılarak belirlenmiştir. Kateşinler, COX-2, PGE 2 reseptörlerini ve epitelyal-mezenkimal geçiői hedefleyerek insan melanom hücrelerinin invaziv potansiyelini azaltırlar. Hücre invazyon deneylerini kullanarak, yeşil çay kateşinlerinin hücre göçü üzerindeki inhibitör etkileri; (-)-epigallokateşin-3-gallat > (-)-epigallokateşin > (-)-epikateşin-3-gallat > (-)-gallokateşin > (-)-epikateşin şeklinde olduğu görülmüştür (212, 213).

*Biophytum sensitivum*'dan elde edilen biyoflavonoid olan **amentoflavon**, bcl-2, p53 ve kaspaz-3 genlerini düzenleyerek B16-F10 melanom hücrelerinde apoptozu uyarır ve B16F-10 melanom hücrelerinde, tümörle ilişkili makrofajlarda ve peritoneal makrofajlarda nitrik oksidin yanı sıra proinflamatuvar sitokin üretimini düzenler (214).

**Resveratrol**, *Polygonum cuspidatum* W.'de bulunan, antioksidan ve inflamatuvar özelliklere sahip doğal bir fenoldür. Melanom hücrelerine karşı göçü önleyici özellikleri *in vitro* ve *in vivo* olarak gösterilmiştir (215).

*G.morella* ve *G.hanburyi* dahil olmak üzere çeşitli *Garcinia* türlerinde bulunan fenolik yapılı ksantonoid olan **gambojik asit**, Bax ve Bcl-2 ekspresyonunu düzenleyerek ve insan malign melanom A375 hücrelerinde kaspaz-3 aktivitesini artırarak apoptozu indükler (216-218).

*Ampelopsis grossedentata*'nın yapraklarından yapılan rattan ayındaki ana flavonoid bileşik olan **ampelopsin** anti-metastatik etkiye sahiptir (219).

*Plasmodium falciparum*'da bulunan seskiterpenoid yapılı **artemisin**'in melanom hücre dizilerinin (sırasıyla A375P ve A375M, düşük ve orta metastatik özellikler) göçü kabiliyeti üzerindeki inhibe edici etkilerini analiz edilmiştir. Artemisin'in A375M'de hücre büyümesinin durmasını indüklediğini ve sitotoksik ve

büyümei inhibe edici etkilerle A375P hücrelerinin yaşayabilirliğini etkilediğini gösterirken, diğer tümör hücre dizilerinin (MCF7 ve MKN) proliferasyonunun aksine etkili olmadığı gösterilmiştir (220).

$\beta$ -karoten, *Daucus carota* L. gibi birçok yenilebilir meyve ve sebze bulunan fotosentetik ve A vitamini aktivitesine sahip bir tetraterpenler yapılı **karotenoid**dir. B16-F10 melanom hücrelerinde transkripsiyon faktörlerinin nükleer translokasyonunu engeller (221).

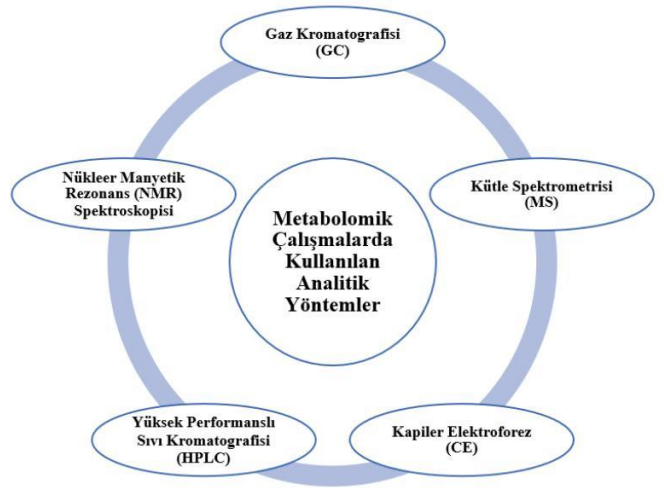
### 2.11. Metabolit, Metabolom ve Metabolomik Kavramları

Metabolitler molekül ağırlıkları 1.500 Da'un altında olan küçük moleküller peptitler, oligonükleotidler, şekerler, nükleozidler, organik asitler, ketonlar, aldehitler, aminler, amino asitler, lipitler, steroidler, alkaloidler ve ilaçlar, insan-bakteri ürünleridir (222). Metabolom, bir hücre veya organizmada bulunan küçük moleküler ağırlıklı bileşiklerin yani metabolitlerin tamamıdır (223). Metabolitler, sistem homeostazının ana düzenleyicileridir. Bu nedenle, belirli metabolit gruplarının derişim değışiklikleri, çevresel, terapötik veya genetik müdahalelere verilen sistemik tepkileri yansıtabilir. Metabolitlerin incelenmesi, karmaşık fenotiplerin karakterizasyonu ve ayrıca belirli fizyolojik tepkiler için biyobelirteçlerin geliştirilmesi için önem taşımaktadır (224).

Metabolomik, küçük moleküllerin (metabolit) tanımlanması ve miktarının belirlenmesi çalışmalarıdır (225). Metabolomik çalışmalar, metabolit hedef analizi, metabolik profil oluşturma ve metabolik parmak izi için çeşitli teknoloji platformlarının geliştirilmesi; veri hazırlama, depolama, iyileştirme ve analizlerdeki iyileştirmeler; transkriptomik ve proteomik ile karşılaştırmalı entegre çalışmalar ve insan, hayvan, bitki ve mikrobiyolojide metabolomik uygulamasını amaçlamaktadır (226). Metabolomik analiz, hedeflenmiş ve hedeflenmemiş metabolomik olmak üzere ikiye ayrılır. Hedeflenmiş metabolomikte, analiz edilmek için seçilen metabolitler önceden bilinmektedir. Hedeflenmemiş metabolomik ise mümkün olduğunca çok sayıda metaboliti belirlemek için kullanılır ve hem metabolit miktarını hem de bunların tanımlanmasını içerir (227).

## 2.12. Metabolomik Çalışmalarda Kullanılan Analitik Yöntemler

Peptidler, amino asitler, nükleik asitler, karbonhidratlar, organik asitler, vitaminler, polifenoller, alkaloidler ve inorganik türler dahil olmak üzere bu küçük moleküller; bir hücre, doku veya organizmadaki fonksiyonel fenotipi temsil eden küçük molekülü biyobelirteçler olarak işlev görür. Bu küçük moleküllerin ayrılması ve tanımlanması için Gaz Kromatografisi (GC), Kütle Spektrometrisi (MS), Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi, Kapiler Elektroferez (CE), Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile metabolitler tespit edilebilmektedir. Her tekniğin avantajları ve dezavantajları vardır. NMR'ın birçok avantajı vardır, ancak NMR'ın duyarlılığı, MS yöntemleriyle karşılaştırıldığında nispeten zayıftır ve potansiyel derişimleri biyobelirteçler tayin sınırının altında olabilir. GC-MS, uçucu bileşikler oluşturmak için numunenin türevlendirilmesini gerektirir. Türevlenmeyen uçucu olmayan bileşikler ve büyük veya ısıya duyarlı bileşikler GC-MS analizinde gözlenmez. LC-MS ise numunelerin türevlendirme gibi ön işlem gerektirmemektedir (228). Metabolomik çalışmalarda kullanılan analitik yöntemler Şekil 2.13.'de verilmiştir.



Şekil 2.13. Metabolomik çalışmalarda kullanılan analitik yöntemler (228).

## 2.13. Sıvı Kromatografisi - Kütle Spektrometrisi (LC-MS)

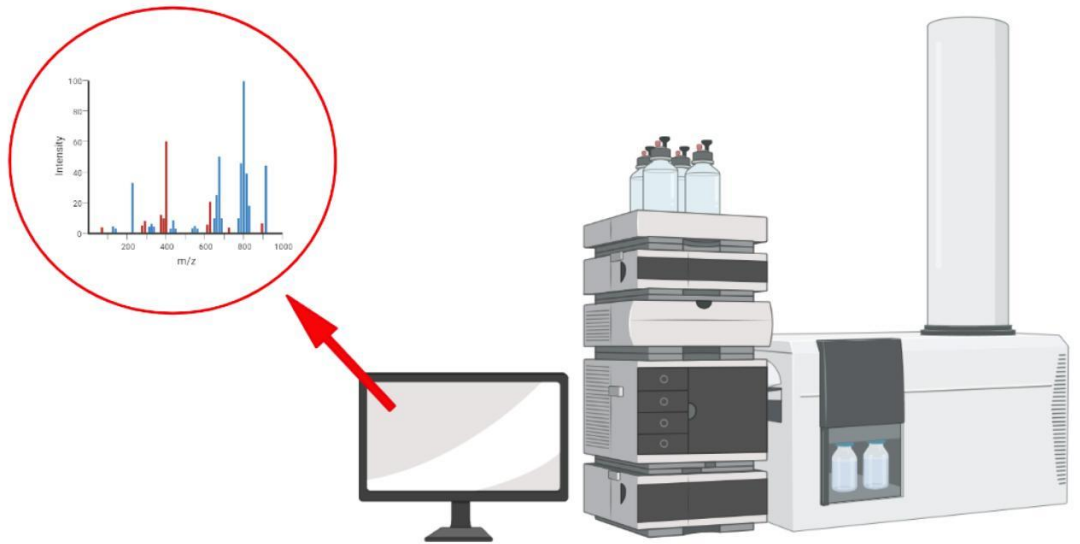
LC-MS, LC ve MS'in birleşimidir. LC'nin MS'ye bağlanması, numune karmaşıklığını azaltarak ve tayinden önce metabolit ayırmasına izin vererek metabolit tanımlamasını ve miktar tayinini kolaylaştırır. HPLC ise geniş bir polarite



aralığındaki bileşiklerin ayrılmasını sağlar. HPLC ayrımının MS tespiti ile birleştirilmesinin avantajları arasında, numune karmaşıklığını azaltarak, böylece iyonizasyon sürecindeki matris girişimlerini hafifleterek geliştirilmiş MS hassasiyeti ve sinyal tekrar üretilebilirliği yer alır (229). MS, diğer teknikler tarafından kolayca elde edilemeyen hem nitel hem de nicel verileri sağlayabilen güçlü bir analitik yöntemdir. Özellikle moleküler ağırlık, ampirik formül (kesin kütle ölçümü yoluyla), izotop oranları, fonksiyonel grupların ve diğer süstitüentlerin saptanmasını ve bazı durumlarda stereokimyasal özellikler dahil olmak üzere yapının aydınlatılmasını sağlayabilir (230).

### LC-MS'in prensibi;

Numune önce LC ile ayrılır ve ayrılan numune bileşenleri, gaz fazında iyonlara dönüştürüldükleri atmosferik basınçlı iyon kaynağına püskürtülür. Daha sonra kütle analizörü iyonları kütle/yük oranlarına ( $m/z$ ) göre sıralamak için kullanılır ve dedektör, kütle analizörü cihazından çıkan iyonları sayar ve ayrıca her bir iyondan üretilen sinyali yükseltebilir. Sonuç olarak, bir numunenin, parçacıkların ve moleküllerin kütlelerini belirlemek ve moleküllerin kimyasal yapılarını açıklamak için kullanılan kütle spektrumu (kütle-yük oranının bir fonksiyonu olarak iyon sinyalinin bir grafiği) oluşturulur (231). LC-MS cihazı Şekil 2.14.'de verilmiştir.



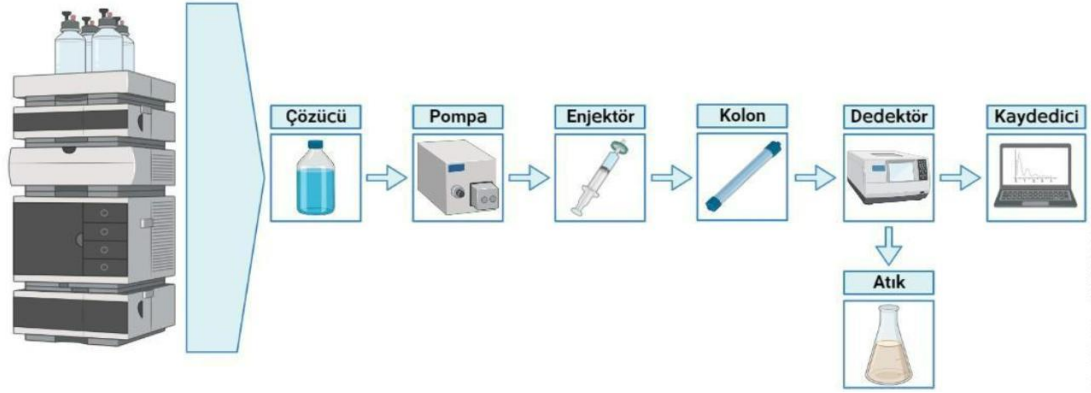
Şekil 2.14. LC-MS cihazı.

### 2.13.1. Sıvı Kromatografisi

"Kromatografi" kelimesi ilk olarak Rus botanikçi Michael Tswett (1906) tarafından kalsiyum karbonat tanecikleri ile dolu bir kolondan yeşil yaprak özütünün geçirilmesiyle gerçekleştirilen bitki pigmentlerinin ayrılmasını tanımlamak için kullanılmıştır. Ayrılma sonucunda bir dizi renkli bölge oluştuğu için, Yunanca "renk" ve "yazmak" anlamına gelen *chromatus* ve *graphein* kelimelerinden türetilen "kromatografi" adını kullanmıştır (232).

Kromatografi, yüzeye veya katı ve akışkan sabit faz içerisine uygulanan karışım halindeki moleküllerin hareketli bir faz yardımıyla hareket ederken birbirinden ayrılması esasına dayanır. Bu ayırma işleminde etkili olan faktörler, adsorpsiyon (sıvı-katı), partiyon (sıvı-sıvı) ve moleküler ağırlıkları arasındaki afinite ilgili moleküler özellikleri içerir. Bu farklılıklardan dolayı karışımın bazı bileşenleri sabit fazda daha uzun süre kalarak kromatografi sisteminde yavaş hareket ederken, diğerleri hızla hareketli faza geçerek sistemden daha hızlı ayrılır (233).

HPLC, asidik, bazik ve nötr analitler dahil ancak bunlarla sınırlı olmamak üzere çeşitli kimyasal numuneleri analiz etme, ayırma ve saflaştırması sayesinde kimyasal, farmasötik ve biyomedikal analizde ve ayrıca ilaç tedavisi izlemede yaygın olarak kullanılır. Ters fazlı sıvı kromatografisinde analiz için bir polar olmayan sabit faz ve bir polar hareketli faz kullanılırken normal fazlı sıvı kromatografisinde sabit faz, hareketli fazından daha yüksek derecede polariteye sahiptir (234). HPLC'de temel prensip, hareketli fazın yüksek basınç uygulanarak dolgulu bir kolondan pompalandığı kolon kromatografisine dayanmaktadır (235). Ayırma ilkesi, çözünen maddenin sabit faza olan afinitesine bağlı olarak sabit faz üzerinde adsorpsiyonudur. Bu cihazın kısımları; çözücü, pompa, enjektör, kolon, dedektör ve kaydedicidir. HPLC'nin şematik gösterimi Şekil 2.15.'de verilmiştir (236).



Şekil 2.15. HPLC şematik gösterimi.

**Çözücü:** Hareketli faz, analiti kolon boyunca hareket ettiren çözücüdür. Analitler, numune hazırlandıktan sonra kromatografik sisteme enjekte edilmek üzere uygun bir çözücü içinde bulunur. Analitler için çözücü (hareketli faz), HPLC'de hareketli faz ile uçuculuk ve karışabilirlik gibi özel gereklilikleri karşılamak için numune hazırlama sırasında seçilebilir. Analitlerin hareketli fazdaki çözünürlüğü de kolon seçiminde önemli rol oynar. Suda veya kısmen sulu çözücülerde çözünen bileşikler için, ters fazlı bir HPLC'nin seçilmesi bir problem değildir, ancak polar çözücülerde çözünmeyen bileşikler için genellikle normal fazlı bir kolon gereklidir (237).

**Pompa:** Genellikle çözücü dağıtım sistemi olarak adlandırılan HPLC pompası, belirli bir bileşimdeki hareketli fazların kolona geçişini sağlar (238).

**Enjektör:** Bir HPLC sistemi için bir enjektör, 0,1-100  $\mu\text{L}$  hacim aralığında sıvı numune enjeksiyonu sağlamaktadır. Enjektör ayrıca sıvı sisteminin yüksek basınçlarına dayanabilmelidir. Otomatik örnekleyici, analiz edilmesi gereken çok sayıda numune varlığında veya manuel enjeksiyonun pratik olmadığı durumlarda kullanılan otomatik bir enjektör çeşididir (239).

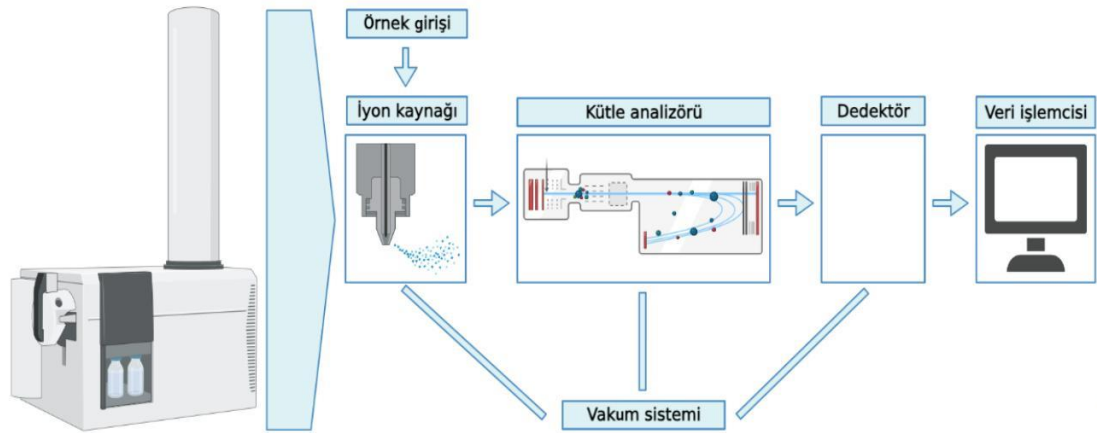
**Kolon:** Sabit fazın parçacıklarıyla dolu bir kolondan geçen hareketli bir sıvı akışına az miktarda sıvı numunenin enjeksiyonu ile gerçekleştirilir ve karışımın bileşenlerine ayrılması kolonda gerçekleşir ve ayrılma kolonda farklı alıkonma derecelerine bağlıdır (239).

**Dedektör:** Bir HPLC sisteminde dedektör, fiziksel veya kimyasal bir niteliği derişime veya kimliğe karşılık gelen ölçülebilir bir sinyale gönüştürmektedir (240). Bu sinyaller kaydedici tarafından görülmektedir (241).

### 2.13.2. Kütle Spektroskopisi

MS, organik molekül parçalanmasıyla ortaya çıkan karakteristik fragmanları veya iyonları belirler. Temel ilke, pozitif yüklü iyonlar üretmek için organik bileşiklerin bir elektron demeti ile bombardıman edilmesini içerir. Ayrıca moleküler iyon, bağları kırmak için elektronların enerjisi kullanılarak parçalanır ve pozitif yüklü türler veya parça iyonları verir. Oluşan pozitif iyonlar veya parça iyonlar, manyetik alan kullanılarak dairesel bir yolda daha da hızlandırılır ve saptırılır ve ardından kütlelerine ve yüklerine göre dedektöre odaklanır. Her iyon, skala üzerinde ayrı bir çizgiyi temsil eder ve pik yoğunluğu şeklinde kaydedilir. İyon sapması yüke, kütle ve hıza dayalıdır, iyon ayrımı  $m/z$  oranına bağlıdır ve saptama iyon bolluğuyla orantılıdır (242).

MS cihazı örnek verme sistemi, iyon kaynağı, kütle analizörü, dedektör ve veri işlemcisi ve vakum sistemi kısımlarından oluşmaktadır (243). Şekil 2.16.'da MS'in şematik gösterimi verilmiştir.



Şekil 2.16. MS'in şematik gösterimi.

**Örnek verme sistemi:** Bir numuneyi iyon kaynağına aktarır.

**İyon kaynağı:** Nötr numune moleküllerini gaz fazındaki iyonlarına dönüştürür. Bu amaçla çeşitli iyonizasyon teknikleri geliştirilmiştir.

**Kütle analizörü:** İyonik türleri ayırır ve kütle analizi yapar. Kütle analizörlerinde iyonların hareketini kontrol etmek için manyetik ve/veya elektrik alanlar kullanılır.

**Dedektör:** Kütleli çözülmüş iyonların iyon akımını ölçer ve yükseltir.

**Veri işlemcisi:** Verileri kolayca tanımlanacak bir biçimde (bilgisayar ekranı veya yazıcı çıktısı) kaydeder, işler, depolar ve görüntüler.

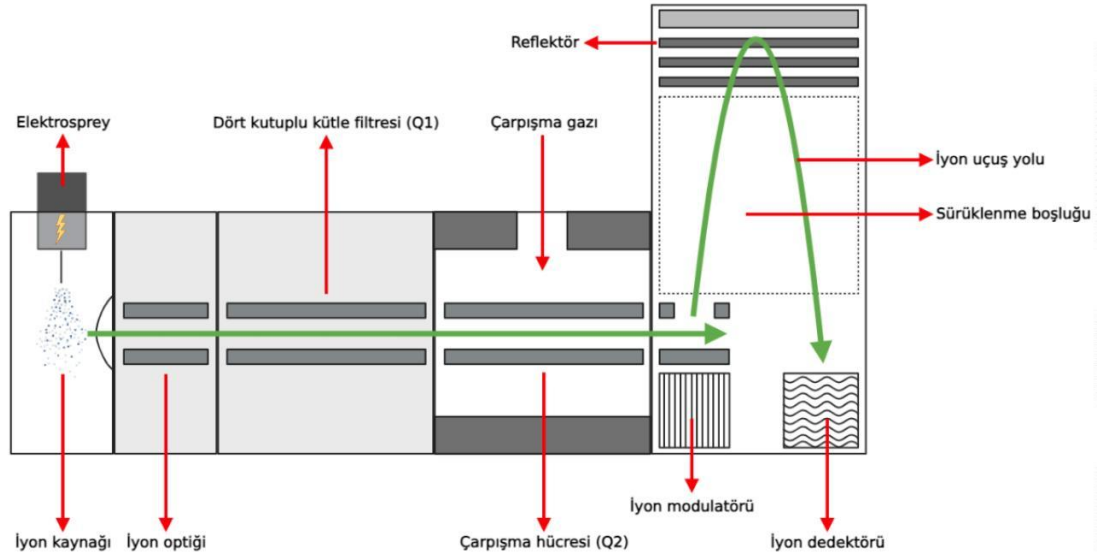
**Vakum sistemi:** Kütle spektrometresinde çok düşük bir basınç sağlar. İyon kaynağı bölgesi genellikle  $10^{-4}$  ila  $10^{-8}$  torr basınçta tutulur; kütle analizörü bölgesinde biraz daha düşük basınç gereklidir (yaklaşık  $10^{-8}$  torr). Çoğu cihaz, optimum vakumu korumak için bir diferansiyel pompalama sistemi kullanır.

#### 2.14. Kuadrapol Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi

Q-TOF MS, dört kutuplu teknolojilerin uçuş zamanlı kütle analizörü ile birleştirilmesi ile oluşan 'hibrit' bir cihazdır.

Q-TOF MS cihazı, üçlü dört kutuplu bir kütle spektrometresinininkine çok benzer, ancak üçüncü dört kutuplunun yerini bir uçuş süresi tüpü almıştır. İlk dört kutuplu (Q1),  $m/z$ 'ye dayalı olarak belirli iyonların seçimi için bir kütle filtresi olarak veya tüm iyonların dört kutuplu aracılığıyla iletiildiği yalnızca radyofrekansı (RF) modunda çalışabilir. İkinci dört kutuplu (Q2), iyonların nitrojen veya argon gibi nötr gaz molekülleri tarafından bombardımana tutulduğu ve çarpışma kaynaklı ayrışma olarak bilinen bir işlemle iyonların parçalanmasına neden olan bir çarpışma hücresi görevi görür. Q2 ayrıca iyonların daha sonra parçalanması olmadan sadece RF modunda da hareket edebilir. Dört kutuptan ayrıldıktan sonra iyonlar, uçuş süresi analizörünün iyon modülatör bölgesine yeniden hızlandırılır ve burada bir elektrik alanı tarafından darbelendirilirler ve orijinal yönlerine dikey olarak hızlandırılırlar. Aynı kinetik enerjiye sahip olan tüm iyonlar, artık kütle ayrımının meydana geldiği alandan bağımsız sürüklenme bölgesi olan uçuş tüpüne girer. Daha hafif bir kütle sergileyen iyonların uçuş süresi daha kısa olurken, daha ağır iyonların uçuş yolunu dedektöre doğru kat etmesi daha uzun sürer. Modern uçuş süresi analizörleri ayrıca, aynı  $m/z$ 'yi sergileyen, ancak değişen hızlara sahip iyonların kinetik enerji dağılımını ve uzaysal yayılmasını düzeltmeye yarayan bir reflektör cihazından yararlanır. Bu yansıma düzeltmesi, aynı  $m/z$ 'deki iyonların dedektöre aynı anda ulaşmasını sağlar. Reflektör cihazı ayrıca kütle çözünürlüğünü iyileştiren uçuş yolu uzunluğunu da artırır (244).

QTOF'un şematik diyagramı Şekil 2.17.'de verilmiştir.



Şekil 2.17. QTOF'un şematik diyagramı.

## 2.15. Metabolomik Analiz Süreci

Metabolomik analiz süreci temel olarak numune hazırlama, metabolit ekstraksiyonu, türevlendirme, ayırma ve tayin ve veri işleme aşamalarından oluşmaktadır. Bu analiz süreci Şekil 2.18.'de verilmiştir.



Şekil 2.18. Metabolomik analiz süreci.

**Numune hazırlama:** Numune hazırlama, metabolomik çalışmanın ilk aşamadır. Hazırlanan numunelerin kalitesi, metabolomik analiz için önemlidir. Bu nedenle farklı numuneler için uygun hazırlama yöntemini seçmek gerekmektedir. Katı numuneler için sırasıyla numunelerdeki nemi azaltmak ve metabolitlerin salınımını artırmak için dondurarak kurutma ve öğütme gerekir. Katı faz mikro ekstraksiyon, sıvı numunelerin hazırlanması için sıklıkla kullanılmaktadır.

**Metabolit ekstraksiyonu:** Hedef metabolitlerin sayısını, türünü ve derişimini en üst düzeye çıkarmak için farklı numune türleri için farklı ekstraksiyon yöntemleri vardır. Ekstraksiyon çözeltisinin seçimi de geri kazanım oranı ve metabolik profiller

üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Yaygın olarak kullanılan ekstraksiyon çözücülerini arasında su, kloroform, perklorik asit, metanol, asetonitril yer alır. Polar metabolitler için su-alkol çözeltileri gibi hidrofilik çözücüler ve polar olmayan metabolitler için hidrofobik çözücüler seçmek gerekir.

**Türevlendirme:** Her zaman gerekli değildir. Metabolitlerin analizini kolaylaştırmak ve GC-MS kullanılıyorsa metabolitlerin saptanmasını arttırmak ve geliştirmek için uçucu olmayan bileşikleri uçucu bileşiklere dönüştürmek için metabolitlerin türevlendirilmesi gerekir.

**Ayrırma ve tayin:** Yaygın olarak kullanılan tayin teknikleri NMR ve MS'dir. NMR'nin duyarlılığı düşük olmasına rağmen,  $\mu\text{M}$  seviyelerinde çeşitli metabolitlerin non-invaziv, hızlı ve tekrarlanan analizi için kullanılabilir. MS'in duyarlılığı çok daha yüksektir ve analiz için yalnızca birkaç  $\mu\text{L}$  numune gerektirir. GC-MS esas olarak uçucu ve yarı uçucu metabolitleri tanımlamak için kullanılırken, uçucu özelliği olmayan maddelerin GC-MS tarafından tespit edilmeden önce türevlendirilmesi ve ayrılması gerekir. Ancak GC-MS herhangi bir sekonder metaboliti tanıyamaz. LC-MS numuneler için karmaşık bir ön işlem gerektirmez ve ekstraksiyondan sonra metabolitleri doğrudan ayırabilir ve saptayabilir. LC-MS primer metabolitlerin yanı sıra flavonoidler gibi sekonder metabolitleri de belirleyebilir.

**Veri işleme:** Metabolit değişikliklerinin görselleştirilebildiği ve bu değişikliklere yol açan olası metabolik yolların KEGG (Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi) veri tabanı kullanılarak araştırılabildiği aşamadır. İnsan Metabolom Veritabanı (HMDB), KNApSack ve MassBank gibi birçok metabolom veri tabanı vardır. Bilgiler bu güvenilir veritabanlarıyla ve çok değişkenli istatistiksel analizlerle hizalandıktan sonra elde edilen ham veriler, biyobelirteçler gibi daha anlamlı sonuçlara dönüştürülebilir. Temel Bileşen Analizi (PCA) ve Kısmi En Küçük Kareler Ayrırma Analizi (PLS-DA), metabolomik alanında en sık kullanılan istatistiksel yöntemlerdir. PCA, daha büyük varyans elde etmek için veri setini daha az boyuta indirgeyen, metabolit nicelik analizi için yaygın olarak kullanılan boyutluluk azaltma yöntemidir. PLS-DA, değişkenler arasındaki korelasyonu maksimize eden denetimli bir istatistiksel analiz yöntemidir ve sıklıkla metabolitleri taramak ve gruplar arasındaki genel metabolik değişiklikleri analiz etmek için kullanılır (245).

## 2.16. Metabolomik Çalışmalarda Veri İşleme

Metabolik bir çalışma tasarımı seçildikten sonra, numune alma, numune ön işleme ve analitik ölçümden oluşan veri üretimi gerçekleşir (246).

Veri işlemenin temel amacı, ham veri dosyalarını, gözlenen her bir iyonun özelliklerine kolay erişimi kolaylaştıran temsillere dönüştürmektir. Bu özellikler arasında m/z ve iyonun alıkonma zamanı ve her bir ham veri dosyasından bir iyon yoğunluğu ölçümü yer alır. Bu temel özelliklere ek olarak, veri işleme, iyonun izotop dağılımı gibi ek bilgileri çıkarabilir (247).

**Ham verilerin ön işlenmesi:** Analitik araçlar, basit ve karşılaştırılabilir metabolit listeleri sağlamaz. Kullanılabilir bir veri matrisi oluşturmak için ham veriler çeşitli şekillerde işlenmelidir. Bu adımda karmaşıklığı azaltmak ve metabolik olarak anlamlı sinyalleri artırmak için veri analizindeki varyansı ve yanlılığı ortadan kaldırmak amaçlanır. Bunun için XCMS, Mzmine, OpenMS ve MetAlign gibi uygulanabilirlikleri ve etkililikleri sayesinde kullanılırlar.

**Gürültü filtreleme ve baseline düzeltme:** Gürültü filtreleme, bileşen sinyallerini kimyasal matristen veya enstrümantal girişimden kaynaklanan arka plandan ayırmak, ölçüm gürültüsünü veya temel bozulmaları ortadan kaldırmak için tasarlanmıştır.

**Pik tespiti:** Pik tespitinin amacı, bir numunedeki moleküllere (örn. metabolitler) karşılık gelen sinyalleri belirlemek ve ölçmektir.

**Hizalama:** Farklı örnek setlerinde oluşan varyansın piklere ait alıkonma zamanı ve de m/z oranları üzerinden ilişkilendirilerek düzeltilmesi ve de tek bir ortalama değerlerle çizilmiş kromatogram üzerinden verinin tüm örneklerle uyarlanmasıdır.

**Normalizasyon:** Normalizasyon, analitik gürültü veya deneysel kaynaklar sebebiyle oluşan varyasyonları ortadan kaldırır. Metabolitlerin çoğunluğunun sinyali kararlıysa, analit bolluğunun birim norm ve medyan yoğunluk normalizasyonu gibi diğer tüm pik noktalarına görelî oranı hesaplanarak basit ve verimli normalleştirme elde edilebilir (248).



## 2.17. Metabolomik Çalışmalarda Kullanılan Yazılım ve Veri Bankaları

LC-MS tabanlı hedeflenmemiş metabolomik deneylerden elde edilen veriler oldukça karmaşıktır. Bu nedenle, sonuçların işlenmesi için tipik olarak biyoinformatik yazılım gerekir. Şu anda, pek çok güvenilir yazılım bulunmaktadır (249).

### XCMS

XCMS, ham MS verilerinden metabolik özellikleri çıkarmak ve istatistiksel analiz gerçekleştirmek için bir metabolomik veri işleme algoritması olarak geliştirilmiştir (250). XCMS kısaltmasındaki 'X', yazılımın herhangi bir kromatografi biçimine uygulanabileceğini belirtmek için kullanılır (249).

### MSDIAL

MSDIAL, en popüler genel metabolomik analiz platformlarından biridir (251). Veriden bağımsız edinim (DIA), moleküler verilerin kapsamlı hedeflenmemiş çalışmaları sağlar. MS-DIAL için veriler ilk olarak Analiz Temel Dosyası (ABF) formatına dönüştürülür. Alıkonma zamanı (Rt) ve kütle (m/z) tespit edilir ve her nokta, saptanan bir piki temsil eder (252).

### MetaboAnalyst

MetaboAnalyst, kolayca metabolomik veri analizi, görselleştirme ve işlevsel yorumlama yapmasına yardımcı olmak için tasarlanmış kapsamlı bir web tabanlı araç paketidir. MetaboAnalyst, herhangi bir işlevsel analiz gerçekleştirmeden önce KEGG, HMDB, ChEBI, METLIN ve PubChem dahil olmak üzere çok çeşitli veritabanı tanımlayıcılarına ortak bileşik adlarının eşlemesini gerçekleştirir (253). PCA ve PLS-DA dahil olmak üzere çeşitli modüllerdeki etkileşimli grafikleri sistematik olarak vermektedir (254).

### İnsan Metabolom Veritabanı (HMDB, The Human Metabolom Database)

HMDB, metabolitler, bunlarla ilişkili enzimler veya taşıyıcılar ve bunların hastalıkla ilgili özellikleri hakkında kantitatif, analitik veya moleküler ölçekli bilgilere güçlü bir de odaklanan çok amaçlı bir biyoinformatik-kimya-bilişim-tıbbi bilişim veritabanıdır (255). 2007'den beri insan metabolitleri ve bunlarla ilişkili biyolojik, fizyolojik ve kimyasal özellikler hakkında kapsamlı referans bilgileri sağlamaktadır. HMDB'nin ilk sürümü (sürüm 1.0), yalnızca 2.180 insan metaboliti

hakkında sınırlı biyolojik, fizyolojik ve fiziko-kimyasal veri vermekteydi. HMDB'nin son sürümünde (sürüm 5.0) 217.920 açıklamalı metabolit girişinin yanı sıra GC–MS için başka 1.581.537 türetilmiş metabolit girişi de vardır (256).

### 2.18. Metabolomikte İstatiksel Analiz

PCA ve PLS-DA gibi boyut indirgeme yöntemlerinin amacı, verileri olabildiğince küçük bir hatayla daha düşük boyutlu bir uzaya dönüştüren doğrusal bir dönüşüme ulaşmaktır. PLS-DA ve PCA'da seçilen özelliklerin yüzdesine ilişkin değişken bir eşik, X ekseninde gösterilir. Y ekseni, o kesme noktasındaki en iyi özellikler tarafından elde edilen özgülük indekslerinin toplamını temsil eder (257).

Temel olarak, PLS-DA tahmine dayalı modelleme iki ana prosedürü kapsar: (a) PLS bileşen yapısı (yani, boyut küçültme); ve (b) tahmin modeli oluşturma (yani, ayırım analizi) dir (258).

Çok değişkenli analizde, bağımsız değişkenler genellikle birbiriyle ilişkilidir ve bu da regresyon modellerinde çoklu bağlantıya neden olabilir. Bu sorunu çözmek için bir yaklaşım, bu değişkenler üzerinde PCA uygulamaktır. Bu yöntem, doğrusal olarak ilişkisiz olan temel bileşenlerle (PC) potansiyel olarak ilişkili değişken kümelerini temsil etmek için ortogonal dönüşümü kullanır. İlk PC mümkün olan en büyük varyansa sahip olacak ve ilişkili değişkenleri temsil etmek için yalnızca bazı bileşenler seçilecek de sıralanır. Sonuç olarak, değişken uzayın boyutu küçülür (259).

PCA, genellikle çok boyutlu veri kümelerini analiz için daha düşük sayıda boyuta indirmek için kullanılır. PCA, alt sıradaki temel bileşenleri (verilerde mevcut olan varyansın büyük bir bölümünü açıklayanlar) tutarak ve yüksek dereceli olanları (verilerde bulunan varyansın çoğunu açıklamayan) göz ardı ederek, veri setinin varyansına en çok katkıda bulunan özelliklerini korur (260).

### 2.19. Bitki Metabolomiği

Bitkiler, bitki büyümesinde, gelişmesinde ve ortamlara tepki vermede önemli roller oynayan çok sayıda çeşitlendirilmiş yapı ve bol miktarda metabolit üretir (261). Bitki metabolomu primer ve sekonder metabolitler olmak üzere iki metabolitten oluşur. Primer metabolitler, bitkilerde lipitlerin, şekerlerin ve amino asitlerin biyosentezi için önemlidir. Bitki metabolomu ayrıca fenolikler (~10000),

alkaloitler (~21000) ve terpenoidler (>25000) gibi bazı sekonder metabolitlerden oluşur.

Primer ve sekonder metabolitlerin metabolik profili, bitki metabolizması sırasında ortaya çıkan biyokimyasal süreçler hakkında kapsamlı bilgi sağlamaktadır. Bu metabolitlerin başarılı bir şekilde saptanması, tanımlanması ve değerlendirilmesi, GC-MS, LC-MS ve NMR gibi metabolomik yöntemlerle mümkündür (262).

Bitkilerde, metabolomdaki büyük çeşitliliğin büyük bir kısmı, genellikle primer metabolitlerin sayısını büyük ölçüde aşan çok çeşitli ikincil metabolitlerin varlığından kaynaklanmaktadır. Tespit edilen metabolitlerin bileşimi ve miktarı büyük ölçüde seçilen numune hazırlamaya bağlıdır. Bitkilerdeki büyük kimyasal çeşitlilik, yalnızca farklı bitki türleri arasında değil, aynı zamanda tek bir bitkinin farklı dokuları arasında da mevcuttur (263).

## 2.20. Tedaviye Cevap Sürecinin İzlenmesinde Metabolomik

*Mangifera indica*'nın etil asetat ve metanol ekstraktlarının fare miyoblastlarının hücre farklılaşması ve *in vivo* yara iyileştirme özellikleri için Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi/Elektrosprey İyonizasyon-Kuadrupol Uçuş Zamanlı-Kütle Spektrometresi (UPLC/Q-TOF MS) ile kapsamlı metabolik analizi sonucu bileşiklerin fenoller, flavonoidler, fenoller, polifenoller, diterpenler, triterpenler, seskiterpenler gibi çeşitli sınıflara ait olduğunu göstermiştir. *M. indica*'nın çözelti ekstraktları, oksidatif stres oluşturarak ve PI3K, Akt, mTOR, MyoG ve MyoD gibi miyojenik işaret proteinlerini düzenleyerek fare miyoblast hücrelerinin çoğalmasını ve farklılaşmasını arttırmıştır (264).

*Periploca forrestii* Schltr.'nin yara iyileştirme aktivitesi, L929 hücreleri kullanılarak fibroblast proliferasyonu, migrasyon ve kollajen üretimi ile değerlendirilmiştir. Ana bileşenlerin sistematik olarak tanımlanması ve karakterizasyonu için HPLC/Q-TOF MS/MS yöntemi oluşturulmuştur. HPLC/Q-TOF-MS/MS analizine göre 65 etanol fraksiyonu kardiyak glikozitler açısından zengindir. Bu nedenle, kardiyak glikozitleri yara iyileşmesi ile ilişkili potansiyel aktif bileşenler olarak tanımlanmıştır (265).

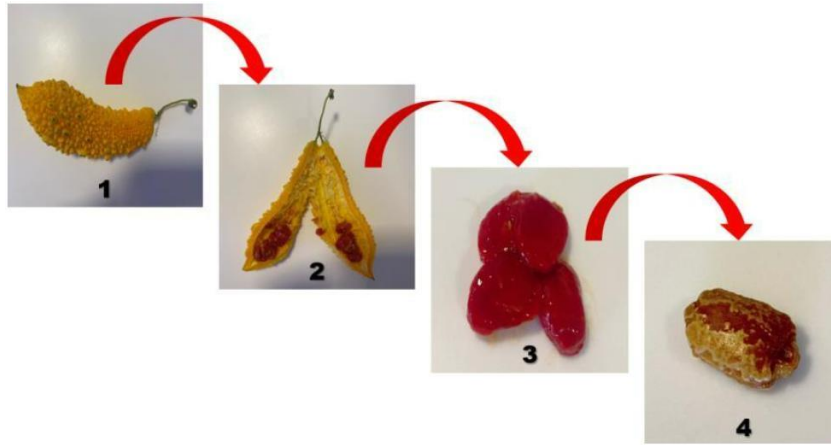
*Reynoutria japonica* Houtt rizomlarının ekstraktlarının fibroblastların proliferasyonu, migrasyonu ve kollajen III üretimi üzerinde gözlenen uyarıcı etkileri,

ekstraktlardaki bileşiklerin yapısına bağlıdır. Bileşiklerin yapısını ve bazılarının içeriğini belirlemek için ekstraktların kalitatif ve kantitatif HPLC/DAD/ESI-HR-Q-TOF MS analizleri yapılmıştır. *R. japonica* rizomlarından %60 aseton, %40 etanol ve %25 etanol ekstraktlarının HPLC/Q-TOF MS analizi ile toplam 54 farklı bileşik belirlenmiştir (266).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. *Momordica charantia* L. Bitki Materyali

Yerli bitki *Momordica charantia* L., Eylül 2022'de Bursa ili Nilüfer ilçesinden toplanarak Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri tarafından kontrol edilmiştir. Toplandığında meyvelerin rengi turuncu, tohumların rengi kırmızıydı (Şekil 3.1.).

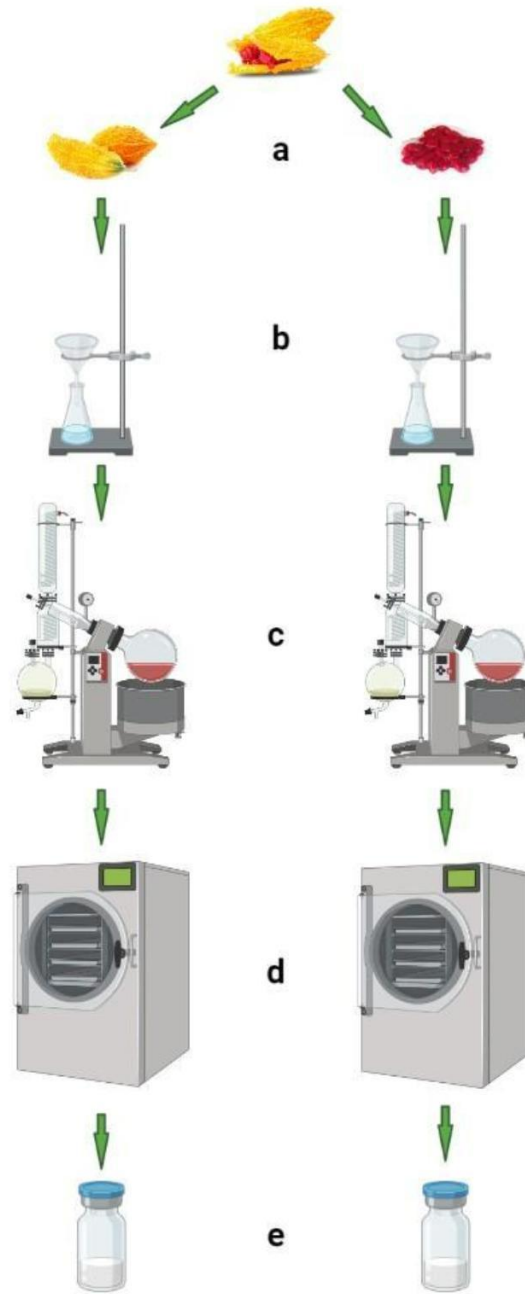


**Şekil 3.1.** Olgunlaşmış meyve (1), olgunlaşmış meyve ve tohum (2), kırmızı zarlı tohum (3), olgunlaşmış tohum (4).

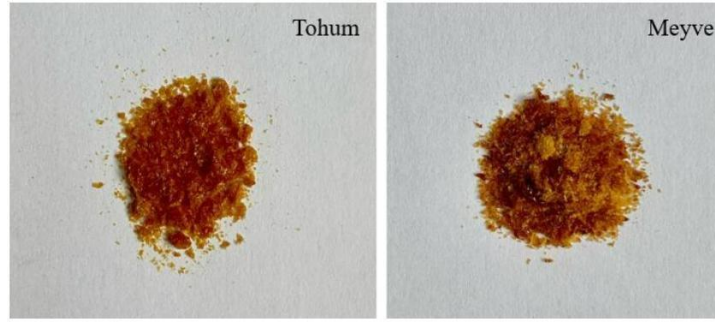
#### 3.2. *Momordica charantia* L. Ekstraktlarının Hazırlanışı

Çekirdekler meyvelerden ayrılarak (Şekil 3.2.-a) oda sıcaklığında gölgede kurutulmuştur. Ekstraksiyondan önce tohumlar öğütücüde öğütülmüştür ve meyveler küçük parçalar halinde kesilmiştir. Meyve ve tohumun miktarları sırasıyla 79.68 g ve 67.33 g'dır. Materyaller tek tek %70 metanol ile 40°C'de 8 saat süreyle sürekli ekstraksiyona tabi tutulmuş ve işlem her seferinde taze çözücü ile 3 kez tekrarlanmıştır (Şekil 3.2.-b). Tekrarlanan ekstraktlar bir araya getirilmiştir ve 40°C'de vakumda kuruyana kadar konsantre edilmiştir (Şekil 3.2.-c). Meyve ve tohumların ekstraktları ayrı ayrı liyofilize edilmiştir (Şekil 3.2.-d) ve 5,14 g meyve ve 4,27 g tohum ekstraktları elde edilmiştir (Şekil 3.2.-e). Verim, meyve ve tohum için sırasıyla %6.5 ve %6.3 olarak tespit edilmiştir. Şekil 3.3.'de *Momordica charantia* L.'nin ekstraktları görülmektedir.

*Momordica charantia* L. ekstraktlarının hazırlanmasında kullanılan kimyasallar, cihaz ve sarf malzemeler Tablo 3.1. ve 3.2.'de verilmiştir.



Şekil 3.2. *Momordica charantia* L. ekstraktlarının hazırlanması.



**Şekil 3.3.** *Momordica charantia* L.'nin sulu ekstraktları.

**Tablo 3.1.** *Momordica charantia* L. ekstraktlarının hazırlanmasında kullanılan kimyasallar.

Kimyasal	Marka	Kullanım Amacı
1-Bütanol	Merck	Suyun kaynama noktasının düşürülmesi
Metanol	Sigma	Bitki ekstraksiyonu
milliQ Su	Barnstead	Bitki ekstraksiyonu

**Tablo 3.2.** *Momordica charantia* L. ekstraktlarının hazırlanmasında kullanılan cihaz ve sarf malzemeler.

Cihaz ve Sarf Malzemeler	Marka	Kullanım Amacı
Liyofilizatör	Virtis Benchtop K	Sulu ekstraktların kuru hale getirilmesi
Öğütücü	AEG (VDE0530/ 72)	Tohumların öğütülmesi
Rotavapor	BUCHI (Vakum Pompası V-700, V-500, Vakum Kontrol Sistemi V-800, Isıtıcı Banyo B-490)	Çözücülerin düşük sıcaklık altında buharlaştırılması

### 3.3. Hücre Kültürü Çalışmaları

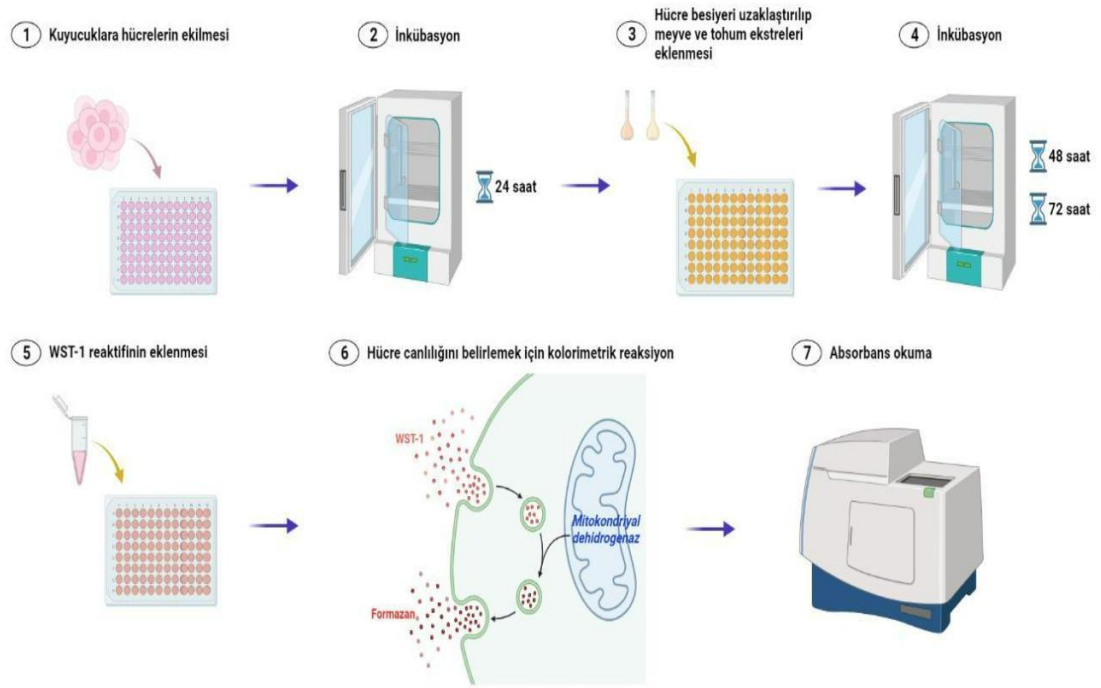
Hücre kültürü çalışmalarında, B16-F10 fare melanom hücre hattı (ATCC CRL- 6475) kullanılmıştır. B16-F10, melanomlu bir farenin deri dokusundan izole edilmiş, iğsi ve epitel benzeri hücre morfolojisine sahip bir hücre hattıdır. Hücreler için besiyeri olarak %10 fetal sığır serumu (FBS), penisilin (100 U/mL) ve

streptomisin (100 mg/mL) içeren Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) kullanılmıştır. Hücreler 37 °C ve %5 CO<sub>2</sub>'li etüvde inkübe edilmiştir.

Meyve ve tohum ekstraktlarının IC<sub>50</sub> (Yarı maksimum inhibitör derişimi) değerlerinin belirlenmesi amacıyla hücreler, 96 kuyucuklu hücre kültür plakalarına her bir kuyucuğa 100 µL DMEM içinde 1x10<sup>4</sup> hücre olacak şekilde ekilmiştir ve tutunmaları için 24 saat etüvde inkübe edilmiştir. 24 saat inkübasyon sonrası hücreler üzerindeki besiyeri uzaklaştırılmıştır. Meyve ve tohum ekstraktlarının her birisinden 5 mg tartılarak balon jöjeye alınıp üzerine 1 Ml Dimetil sülfoksit (DMSO) eklenerek vortekste karıştırılmıştır ve sonrasında 20 dakika ultrasonik banyoda bekletilerek çözülmüştür. Üzerine 4 mL tamamlanmış besiyeri (FBS+penisilin+streptomisin) eklenerek 1000 µg/mL çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan bu stok çözeltiler kullanılarak, hücreler DMEM ile seyreltilmiş farklı derişimlerde (1000.0, 500.0, 250.0, 125.0, 62.5, 31.25 ve 15.625 µg/mL) meyve veya tohum çözeltisi ile 48 saat ve 72 saat inkübe edilmiştir (n=6). Ardından Suda çözünür tetrazolyum tuzu (WST-1) testi ile hücre canlılığı belirlenmiş ve IC<sub>50</sub> değeri GraphPad Prism version 6 programı kullanılarak hesaplanmıştır. Bu amaçla, inkübasyon süresi sonunda hücreler üzerindeki örnek içeren besiyeri uzaklaştırılmış ve her bir kuyucuğa 100 µL DMEM içinde WST-1 (0.1 mg/mL) eklenmiş ve 4 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası 450 nm'de absorbands değerleri multiplaka okuyucu ile belirlenmiştir.

Hücre kültürü çalışmalarında kontrol grubu olarak sadece besiyerinde inkübe edilmiş hücreler kullanılmıştır ve kontrol grubundaki hücre canlılığı %100 olarak kabul edilerek diğer gruptaki canlılık hesaplanmıştır. Hücrelerin ekilmesi ve WST-1 Testi ile hücre canlılığının belirlenmesi aşamaları Şekil 3.4.'de gösterilmiştir.





**Şekil 3.4.** WST-1 Testi ile hücre canlılığının belirlenmesi.

Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan biyolojik materyaller, kimyasallar, hücre kültürü çalışmalarında kullanılan cihaz ve sarf malzemeler Tablo 3.3.-3.5.'de verilmiştir.

**Tablo 3.3.** Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan biyolojik materyaller.

<b>Biyolojik Materyal</b>	<b>Marka</b>	<b>Kullanım Amacı</b>
B16-F10 Fare melanom hücre hattı (CRL- 6475)	Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu (ATCC)	Metabolomik çalışmalarda kullanılan hücre hattı
Fetal sığır serumu (FBS)	Sigma	Hücrelerin tutunabilmeleri ve çoğalmaları için kullanılan ve içeriği tam olarak tanımlanmamış zengin bir protein çözeltisi

**Tablo 3.4.** Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan kimyasallar.

<b>Kimyasal</b>	<b>Marka</b>	<b>Kullanım Amacı</b>
DMSO (Hücre kültürüne uygun, $\geq$ %99.5)	Sigma	Hücre hattı için ekstrelerin çözülmesi
DMEM High Glucose	Sigma	Hücre hattı için ekstrelerin seyreltilmesi (Hücre kültürlerinde olması gereken temel aminoasit kombinasyonu)
Penisilin/Streptomisin	Sigma	Hücre kültüründe bakteriyel kontaminasyonun önlenmesi
WST-1	Roche	Hücre yaşayabilirliğinin belirlenmesi

**Tablo 3.5.** Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan cihaz ve sarf malzemeler.

<b>Cihaz ve Sarf Malzemeler</b>	<b>Marka</b>	<b>Kullanım Amacı</b>
Biyogüvenlik kabini	Esco ClassIIA-2	Hücre kültürü çalışmalarında gerekli aseptik çalışma ortamının sağlanması
Etüv	Phcbi (Sanyo, Panasonic)	Hücre hattı inkübasyonu
GraphPad Prism version 6 programı	Ücretsiz yazılım	IC <sub>50</sub> değerinin hesaplanması
Hücre kültürü flaskı	SPL Tissue Culture Flask, 25 cm <sup>2</sup>	Hücre kültürü çalışmalarında etkin ve hızlı büyümenin sağlanması

**Tablo 3.5.** (Devam) Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan cihaz ve sarf malzemeler.

<b>Cihaz ve Sarf Malzemeler</b>	<b>Marka</b>	<b>Kullanım Amacı</b>
Hücre kültürü plakası	Greiner BIO-ONE	Hücre kültürü çalışmalarında örnekleme yapılması
Hücre Sayım Cihazı	Bio-Rad TC20	Hücre kültürü çalışmalarında kullanılacak yoğunlukta hücre hazırlanması
Kamera Ataçmanlı Floresans Mikroskop	Nikon Eclipse Ts2	Hücrelerin morfolojik incelenmeleri
Mikroplaka okuyucu	Molecular Devices, SpectraMax iD3	Absorbans değeri ölçülmesi

### **3.4. LC/Q-TOF MS Analizlerinde Uygulanan Metodoloji**

Analizler, Agilent 6530 Kuadrpol Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi (Q-TOF MS) cihazında gerçekleştirilmiştir. Cihaz firmanın ‘Agilent MassHunter’ isimli ticari yazılımı aracılığıyla kontrol edilmektedir. 1200 Infinity UPLC sistemi, pompa, kolon fırını ve otomatik enjektörlü bir sistemdir. HPLC sistemi, kütle spektrometre cihazı ile bağlantıyı aynı zamanda iyonlaştırıcı olarak çalışan ESI (Elektrosprey iyon kaynağı) başlığı aracılığı ile gerçekleştirir. Sistem kurutucu gaz olarak azot gazını kullanır ve bu nedenle cihaza bağlı bir azot jeneratörü bulunmaktadır. LC/Q-TOF MS sistemi için gerekli vakum ortamını sağlayabilmek amacıyla, birisi kaba vakum denilen ön vakum cihazı, ikinci olarak da yüksek vakum için bir başka vakum sistemi daha kullanılmaktadır.

#### **3.4.1. *Momordica charantia* L.’nin Analizi**

LC/Q-TOF MS cihazında gerçekleştirilen parametreler Tablo 3.6.’da verilmiştir. Analiz için gradient elüsyon programı kullanılmıştır. Bu program Tablo 3.7.’de verilmiştir.

**Tablo 3.6.** Bitki metabolomiğin için LC/Q-TOF MS parametreleri.

Parametre	Değer
Akış hızı	0.30 mL/dak
Enjeksiyon hacmi	10 µL
Ms tarama aralığı	100-1700 m/z
Kalpiller voltaj	4000 V
Kolon sıcaklığı	35 °C
Kurutucu gaz sıcaklığı	350 °C
Kurutucu gaz akışı	10 L/dak
Kurutucu gaz basıncı	45 psi

**Tablo 3.7.** Bitki metabolomiği için gradient elüsyon programı.

	Zaman (dak)	Su (%)	Asetonitril (%)
1	0	90.0	10.0
2	5.0	55.0	45.0
3	15.0	10.0	90.0
4	18.0	90.0	10.0

*Momordica charantia* L.'nin meyve ve tohum ekstraktlarının enjeksiyonu için hazırlanan çözeltiler Tablo 3.8.'de verilmiştir.

**Tablo 3.8.** Meyve ve tohum ekstraktlarının enjeksiyonu için hazırlanan çözeltiler.

Çözelti	Hazırlanışı
<b>Meyve ekstraktı</b>	10 mg meyve ekstraktı tartılmıştır ve balon jøjeye alınmıştır. 5 mL asetonitril:metanol 50:50 (v/v) eklenerek çözülmüştür. Daha sonra üzerine 5 mL daha eklenerek 25 dakika ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Seyreltmeler distile su ile yapılmıştır.
<b>Tohum ekstraktı</b>	10 mg meyve ekstraktı tartılmıştır ve balon jøjeye alınmıştır. 5 mL asetonitril:metanol 50:50 (v/v) eklenerek çözülmüştür. Daha sonra üzerine 5 mL daha eklenerek 25 dakika ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Seyreltmeler distile su ile yapılmıştır.

**Tablo 3.8.** (Devam) Meyve ve tohum ekstraktlarının enjeksiyonu için hazırlanan çözeltiler.

<b>Çözelti</b>	<b>Hazırlanışı</b>
<b>Su (%0.1 Formik Asit)</b>	499.5 mL deiyonize suya 500 µL formik asit eklenerek hazırlanmıştır.
<b>Asetonitril (%0.1 Formik Asit)</b>	499.5 mL asetonitrile 500 µL formik asit eklenerek hazırlanmıştır.

Bitki metabolomiği için tez çalışması kapsamında kullanılan kimyasallar, cihaz ve sarf malzemeler Tablo 3.9. ve 3.10'da verilmiştir.

**Tablo 3.9.** *Momordica charantia* L.'nin analizi kapsamında kullanılan kimyasallar.

<b>Kimyasal</b>	<b>Marka</b>	<b>Kullanım Amacı</b>
Asetonitril	Sigma	Ekstraktların çözülmesi
Metanol	Sigma	Ekstraktların çözülmesi
MilliQ Su	Barnstead	Meyve ve tohum çözeltilerinin seyreltilmesi
Ultra saf su	MILLIPORE Direct-Q Saf su Sistemi	LC-MS hareketli fazı
Asetonitril	Sigma	LC-MS hareketli fazı
Formik Asit (LC-MS Saflıkta)	Sigma	LC-MS hareketli fazı hazırlama

**Tablo 3.10.** *Momordica charantia* L.'nin analizi kapsamında kullanılan cihaz ve sarf malzemeler.

<b>Cihaz, Yazılım ve Sarf Malzemeler</b>	<b>Marka</b>	<b>Kullanım Amacı</b>
Q-TOF MS	Agilent 6530 Agilent Technologies, 184 Santa Clara, CA	Metabolit profillemeye
HPLC	Agilent 1260 Infinity	Metabolit profillemeye
C18 kolon	AGT-695775-702 Poroshell HPH-C18, 2.1x100 mm, 2.7 µm	HPLC kolonu

**Tablo 3.10.** (Devam) *Momordica charantia* L.'nin analizi kapsamında kullanılan cihaz ve sarf malzemeler.

<b>Cihaz, Yazılım ve Sarf Malzemeler</b>	<b>Marka</b>	<b>Kullanım Amacı</b>
Hassas terazi	Mettler Toledo AG285	Meyve ve tohum ekstraktlarının kütlelerinin ölçülmesi
Biyorender	Biyorender	Şekillerin oluşturulması
IPO	Ücretsiz yazılım	XCMS parametrelerini optimize edilmesi
MSDial	Ücretsiz yazılım	Metabolit profilleme
ProteoWizard	Ücretsiz yazılım	MS dosya uzantısının dönüştürülmesi
'R' istatistik programı	Ücretsiz yazılım	XCMS programının çalışması için kullanılan yazılım
Ultrasonik Banyo	Bandelin, Snorex Super RK 154 BH	Meyve ve tohum ekstraktlarının çözünmesi
Vakum Santrifüj	LABCONCO 7310020 Vacuum Concentrator Refrigerate Benchtop	Numune ve çözeltilerin uçurulması
Vorteks	IKA VORTEX 3	Meyve ve tohum ekstraktlarının çözünmesi
XCMS	Ücretsiz yazılım	Metabolit profilleme

### 3.4.2. Melanom Hücre Hattının Analizi

- *Omik Çalışmalarda Hücre Kültüründen Numune Alma*  
*Laminar flow kabin içerisinde;*

Flaskın içerisindeki besi yeri atılmıştır. Flask fosfat tamponlu salin (PBS) ile yıkanmıştır. Flaskın içine 1 mL soğuk metanol eklenmiştir. Eklenen metanolün tüm yüzeye değmesi gerekmektedir.

*Hücre kültüründen hemen çıkınca;*

Yıkanmış kapaklı köpük kutu içerisine sıvı azot eklenmiştir. Hücre kültüründen alınan flask önce bir buz aküsünün üstüne konulup yaklaşık yaklaşık 30 saniye – 1 dak soğuk ortama alıştırılmıştır. Flasklar yavaşça azot içerisine daldırılmıştır. Daldırırken flaskın ağzı sıkıca kapalı olmamalıdır ve flaskın ağzından azotta girmemelidir. Bu basamağın bittiğini anlamak için flaskın içindeki hücrelerin renginin beyaza dönmesi gerekmektedir. Sıvı azottan alınan flasklar numune hazırlama aşamasına geçilene kadar -80°C’de saklanmıştır.

*Numune hazırlama;*

Temiz bir jel kazıyıcı ile duvardaki hücreler dahil olmak üzere bütün hücrelerin yüzeyden ayrılması sağlanmıştır ve flaskın içindeki çözeltide toplanmıştır. Flaskın içindeki hücre süspansiyonunu tamamı otomatik pipetle çekilip eppendorfa alınmıştır. Daha sonra flaskın içine soğuk metanolden 750 µL duvarları yıkayarak eklenmiştir. Kalan hücreler tekrar jel kazıyıcı ile toplanmıştır. Flaskın içindeki hücre süspansiyonu otomatik pipetle alınıp aynı eppendorfa eklenmiştir. Eppendorf 1 dakika vorteks yapılmıştır. Soğutmalı santrifüj cihazında (-4°C , 15000 rpm) santrifüj edilmiştir. Metabolomik çalışmalar için süpernatant kısmı ayrı bir eppendorfa 500 µL alınmıştır. Vakum santrifüjde +4°C’de metanol uçurulmuştur. Kalıntı üzerine 500 µL hareketli faz (50:50 ACN:Su) eklenmiştir. Eppendorf 1 dakika vortekslenmiştir. Santrifüj cihazında (10.000 rpm, 10 dk) santrifüj edilmiştir. Süpernatanttan 150 µL alınıp insert içeren vial konulmuştur. Vial kapağı kapatılıp 5 sn vorteks yapılmıştır. LC/Q-TOF MS cihazında gerçekleştirilen parametreler Tablo 3.11.’de verilmiştir. Analiz için gradient elüsyon programı kullanılmıştır. Bu program Tablo 3.12.’de verilmiştir.

**Tablo 3.11.** Hücre kültürü metabolomiği için LC/Q-TOF MS parametreleri.

Parametre	Değer
Akış hızı	0.35 mL/dak
Enjeksiyon hacmi	5 µL
Ms tarama aralığı	100-1700 m/z
Kalpiller voltaj	4000 V
Kolon sıcaklığı	35 °C
Kurutucu gaz sıcaklığı	300 °C
Kurutucu gaz akışı	8 L/dak
Kurutucu gaz basıncı	35 psi

**Tablo 3.12.** Hücre kültürü metabolomiği için gradient elüsyon programı.

	Zaman (dak)	Su (%)	Asetonitril (%)
1	0	90.0	10.0
2	3.0	65.0	35.0
3	12.0	10.0	90.0
4	14.0	90.0	10.0

*Momordica charantia* L.'nin melanom hücre hattına ekilmesi için hazırlanan meyve ve tohum ekstraktlarının çözeltileri Tablo 3.13.'te verilmiştir.

**Tablo 3.13.** Melanom hücre hattına ekimi için hazırlanan çözeltiler.

Çözelti	Hazırlanışı
Meyve ekstraktı	Meyve ekstraktının 5 mg'ı tartılarak balon jojeye alınıp üzerine 1 mL DMSO eklenerek vorteks karıştırıcıda karıştırılmıştır ve sonrasında 20 dak ultrasonik banyoda bekletilerek çözülmüştür. Üzerine 4 mL tamamlanmış besiyeri (FBS+penisilin+streptomisin) eklenerek 1000 µg/mL çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan bu stok çözeltiler kullanılarak, hücreler DMEM ile seyreltilmiştir.



**Tablo 3.13.** (Devam) Melanom hücre hattına ekimi için hazırlanan çözeltiler.

Çözelti	Hazırlanışı
<b>Tohum ekstraktı</b>	Tohum ekstraktının 5 mg'ı tartılarak balon jöjeye alınıp üzerine 1 mL DMSO eklenerek vorteks karıştırıcıda karıştırılmıştır ve sonrasında 20 dakika ultrasonik banyoda bekletilerek çözülmüştür. Üzerine 4 mL tamamlanmış besiyeri (FBS+penisilin+streptomisin) eklenerek 1000 mg/mL çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan bu stok çözeltiler kullanılarak, hücreler DMEM ile seyreltilmiştir.
<b>Su (%0,1 Formik Asit)</b>	499.5 mL deiyonize suya 500 µL formik asit eklenerek hazırlanmıştır.
<b>Asetonitril (%0.1 Formik Asit)</b>	499.5 mL asetonitrile 500 µL formik asit eklenerek hazırlanmıştır.

Melanom hücre hattı analizi kapsamında kullanılan kimyasallar, cihaz ve sarf malzemeler Tablo 3.14. ve 3.15.'de verilmiştir.

**Tablo 3.14.** Melanom hücre hattı analizi kapsamında kullanılan kimyasallar.

Kimyasal	Marka	Kullanım Amacı
Asetonitril	Sigma	LC-MS hareketli fazı
Dimetil sülfoksit, (Hücre kültürüne uygun $\geq$ %99,5)	Sigma	Ekstraktların çözülmesi
Fosfat tamponlu salin (PBS)	Sigma	Flask içerisindeki besiyerinin yıkanması
Formik Asit (LC-MS Saflıkta)	Sigma	LC-MS hareketli fazı hazırlama
Metanol (LC-MS Saflıkta)	Merck	Hücrelerin flask yüzeyinden alınması
Ultra saf su	MILLIPORE Direct-Q Saf su Sistemi	LC-MS hareketli fazı

**Tablo 3.15.** Melanom hücre hattı analizi kapsamında kullanılan cihaz ve sarf malzemeler.

<b>Cihaz, Yazılım ve Sarf Malzemeler</b>	<b>Marka</b>	<b>Kullanım Amacı</b>
Q-TOF MS	Agilent 6530 Agilent Technologies, 184 Santa Clara, CA	Metabolit profillemeye
C18 kolon	AGT-695775-702 Poroshell HPH-C18, 2.1x100 mm, 2.7 µm	HPLC kolonu
BiyoRender	BiyoRender	Şekillerin oluşturulması
Derin dondurucu	Hettich UNIVERSAL 320 R Masaüstü Soğutmalı Santrifüj, 16000 rpm	Metanolün soğutulması ve numune hazırlama aşamasına geçilene kadar flaskların saklanması
Hassas terazi	Mettler Toledo AG285	Meyve ve tohum ekstraktlarının kütlelerinin ölçülmesi
Hücre kazıyıcı	Grainer BIO-ONE 541080 Hücre Sıyırıcı ve Spatüla (Steril, 60° Açılı, 40 cm)	Flaskın duvarındaki hücreler dahil olmak üzere bütün hücrelerin yüzeyden ayrılması
MSDial	Ücretsiz yazılım	Metabolit profillemeye
Reifycs Analysis Base File Converter	Ücretsiz yazılım	MS dosya uzantısının dönüştürülmesi
Santrifüj cihazı	Hettich UNIVERSAL 320 R Masaüstü Soğutmalı Santrifüj	Çökelek ve santrifüjün ayrılması
Ultrasonik banyo	Bandelin, Snorex Super RK 154 BH	Meyve ve tohum ekstraktlarının çözünmesi
Vakum santrifüj	LABCONCO 7310020 Vacuum Concentrator Refrigerate Benchtop	Numune ve çözeltilerin uçurulması
Vorteks	IKA VORTEX 3	Meyve ve tohum ekstraktlarının çözünmesi

### 3.5. Veri İşleme

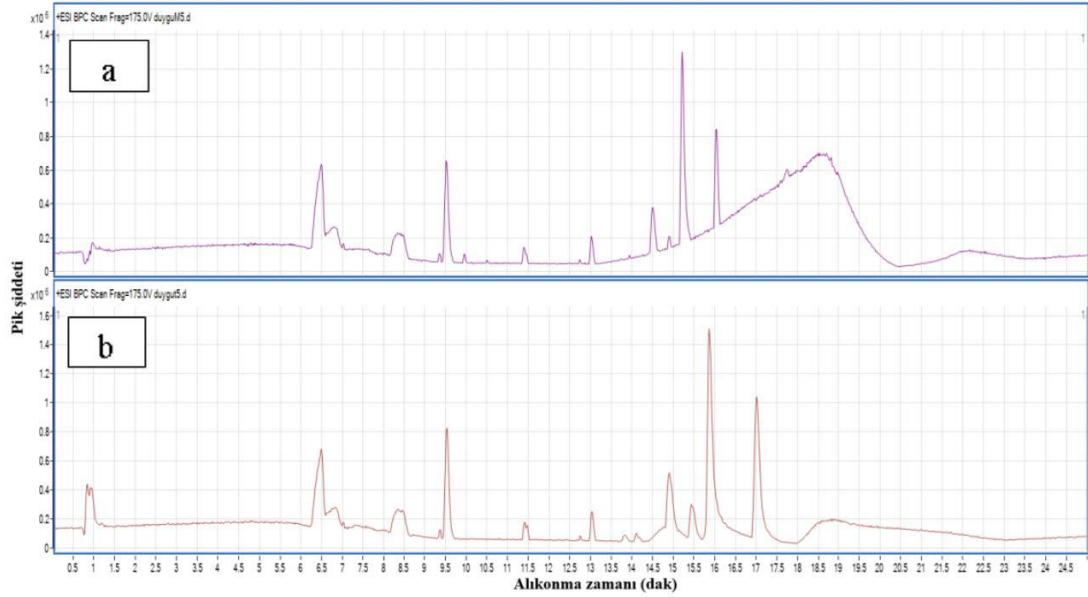
Metabolit profillemeye çalışmaları C18 kolon ve pozitif MS modunda gerçekleştirilmiştir. LC/Q-TOF MS'den çıkan “.d” uzantılı ham datalar “ProteoWizard” yazılımı aracılığıyla işlenebilir “.mzML” uzantılı dosyalara dönüştürülmüştür. Bu dosyalar R yazılımı altında çalışan XCMS yazılımına yüklenerek, ham data parametrelerinin optimizasyonu için geliştirilen ‘IPO’ yardımcı yazılımından ayrılmış iyon kromatogramları ve sonuçları gösteren tablo elde edilmiştir. MSDIAL ile yapılan veri analizi için ‘default’ parametreler kullanılmıştır. Ham verilerin korelasyon analizi yapılmıştır ve  $r < 0.900$  olan pikler değerlendirilmemiştir. Daha sonra bu pikler normalize edilmiştir. Normalizasyon işlemi için, pik şiddetlerinin pikin enjeksiyondaki tüm piklerin ortalamasına bölünmesiyle normalize değerler bulunmuştur. Normalize edilmiş pikler tablosu oluşturulmuş. Bu değerler ‘t istatistik testi’ ile karşılaştırılarak ( $p < 0,05$  güven aralığı) bitki metabolomiği için değişim katsayısı (DK) 2.0 kattan fazla değişen pikler ve hücre kültürü metabolomiği için DK 1.5 kattan fazla değişen pikler bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar MetaboAnalyst 5.0 yazılımına yüklenerek PCA grafikleri çıkarılmıştır ve metabolit eşleştirilmesi yapılmıştır.

## 4. BULGULAR

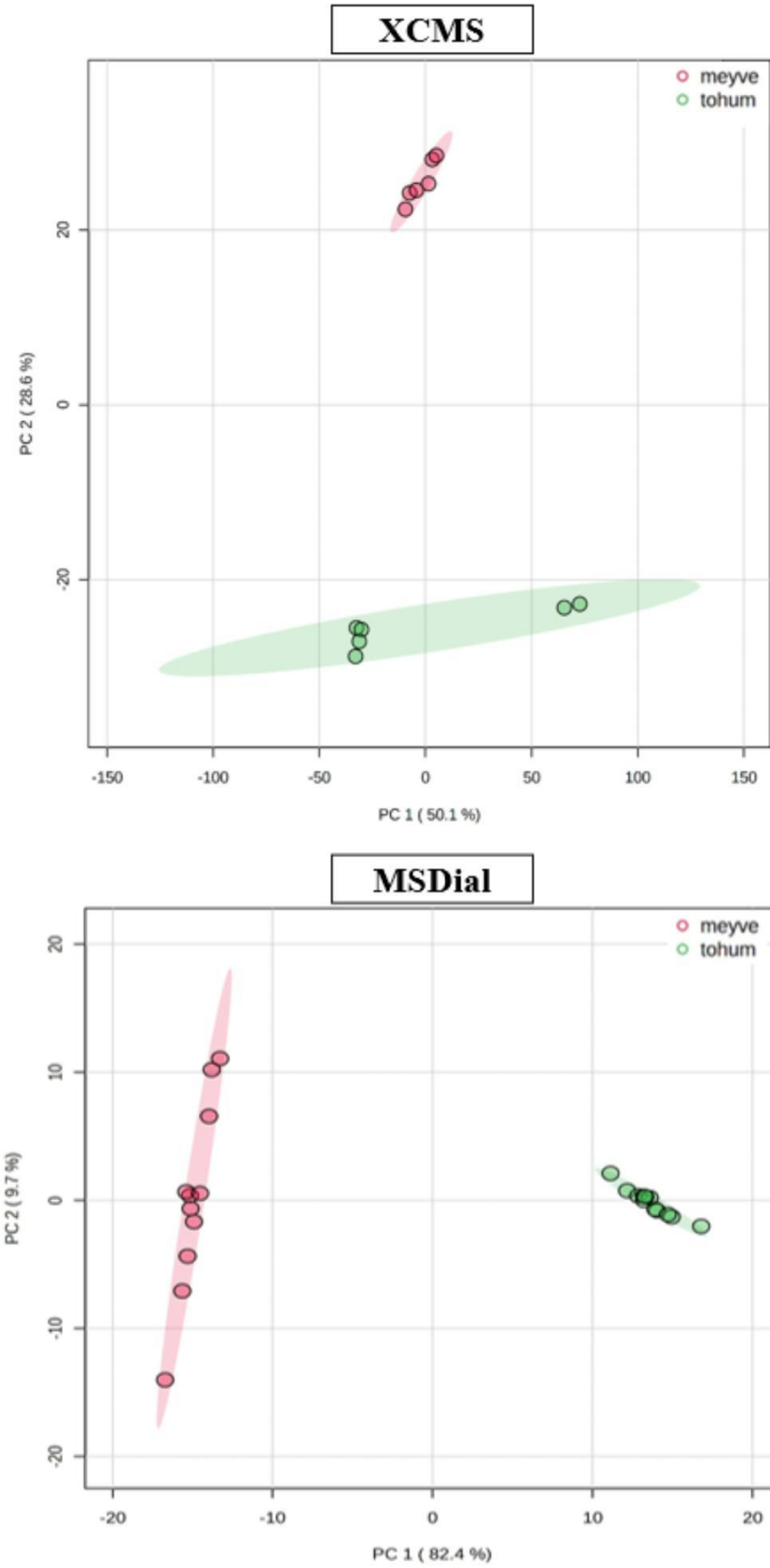
### 4.1. *Momordica charantia* L.'nin LC/Q-TOF MS Analizlerine Ait

#### Bulgular

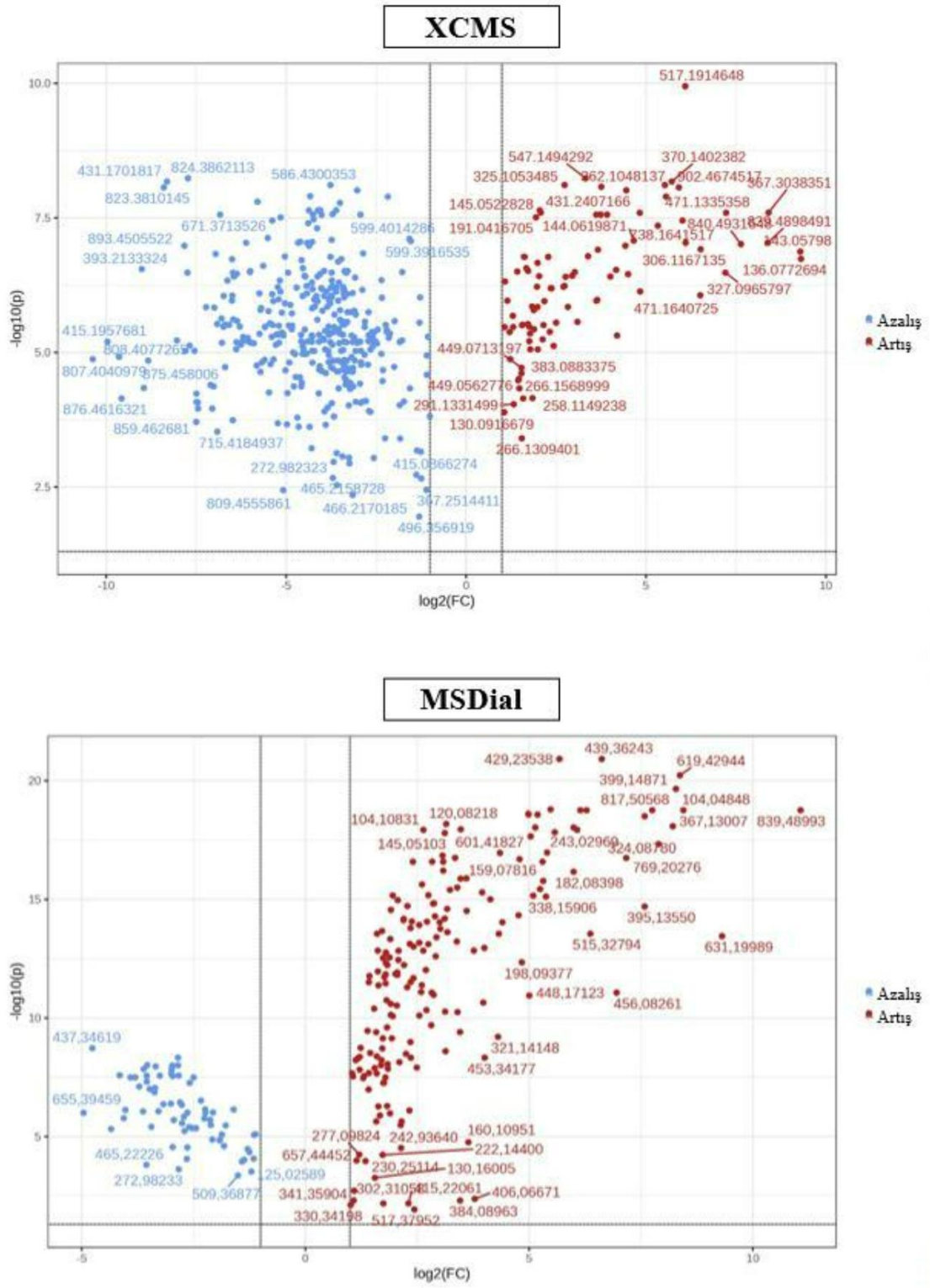
LC/Q-TOF MS enjeksiyonları için meyve ve tohumun temel pik kromatogramları sırasıyla Şekil 4.1.'de verilmiştir. Tohum ve meyveler için metabolom düzeyindeki farklılıkları gösteren PCA grafiği Şekil 4.2.'de verilmiştir. Metabolom düzeyinde meyve ve tohumun Volcana plot grafiği Şekil 4.3.'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Meyve (a) ve tohum (b) için ekstraktlarının temel pik kromatogramları.



**Şekil 4.2.** Tohum ve meyvenin metabolom düzeyindeki istatistiksel farkını gösteren PCA grafiği (XCMS ve MSDial için)



**Şekil 4.3.** Tohum ve meyve metabolomiği arasındaki Volcano plot grafiği (XCMS ve MSDial için).

Şekil 4.4.'de veri analizinde kullanılan XCMS ve MSDial yazılımları ile yapılan veri analizleri sonucu oluşan pik sayıları verilmiştir.

	XCMS	MSDial
Ham verideki pik sayısı	1178	6063
Tohum ve meyve arasında istatistiksel olarak farklı ( $p < 0.05$ ) pik sayısı	695	338
Tohum ve meyve arasında istatistiksel olarak farklı ve en az 2 kat değişime uğramış pik sayısı	617	290
MetaboAnalyst5.0'a yüklenen pik sayısı	617	290
İstatistiksel hesaplamalar ve metabolik yolak analizleri sonucu MetaboAnalyst tarafından eşleştirilen metabolit sayısı (KEGG veri bankası sonuçları)	188	126
MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolit sayısı	97	58

**Şekil 4.4.** Bitki metabolomik veri analizinde kullanılan XCMS ve MSDial yazılımları sonucu pik sayıları.

Tablo 4.1.'de XCMS Veri Tabanı ile yapılan veri analizi sonucu bulunan HMDB'de bitkisel içeriklerle eşleşen metabolitler, Tablo 4.2.'de MSDial Veri Tabanı ile yapılan veri analizi sonucu bulunan HMDB'de bitkisel içeriklerle eşleşen metabolitler verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Bitki metabolomiği sonucu tohum ve meyvede bulunan metabolitler (XCMS).

Metabolit	m/z	Rt (dak)	Eşleşen form	Metabolit adı	MFC**	+/-* (T/M)
1	180.1017	1.0	M+H[1+]	(R)-Salsolinol	13.5	+
2	233.1330	7.2	M-HCOOH+H[1+]	Pantetein	4.1	+
3	147.0442	1.0	M+H[1+]	Kumarin	2.2	+
4	347.1541	1.0	M+Na[1+]	Triptamin	4.2	+
5	492.3836	9.7	M-H <sub>2</sub> O+H[1+]	LysoPC (O-18:0)	18.4	-
6	728.4687	9.2	M+HCOOK[1+]	Glukozilseramid	9.8	-
7	543.3371	15.2	M-CO <sub>2</sub> +H[1+]	Preskualen difosfat	2.3	+
8	129.0420	0.9	M[1+]	Piroglutamik Asit	10.48	+

\* Tohumun (T) meyveye (M) kıyasla metabolit miktarının +, arttığını; -, azaldığını göstermektedir.

\*\* MFC (Miktar değişim oranı), Tohumun meyveye kıyasla metabolit miktarının kaç kat değiştiğinin bir ölçüsüdür.

**Tablo 4.2.** Bitki metabolomiği sonucu tohum ve meyvede bulunan metabolitler (MSDial).

Metabolit	Pik	m/z	Rt (dak)	Eşleşen form	Metabolit adı	MFC**	+/-* (T/M)
1	1	112.9995	1.1	M+K[1+]	D-Laktaldehit	3.8	+
2		112.9995	1.1	M+K[1+]	Laktaldehit	3.8	+
3		112.9995	1.1	M+K[1+]	Hidroksiaseton	3.8	+
4		112.9995	1.1	M+K[1+]	Propiyonik asit	3.8	+
5		112.9995	1.1	M-CO <sub>2</sub> +H[1+]	Fosfoglikolik asit	3.8	+
6		112.9995	1.1	M+H <sub>2</sub> O+H[1+]	Kloroasetik asit	3.8	+
7		121.1018	8.3	M-HCOOH+H[1+]	Perilik asit	11.1	+
8	2	132.1020	1.0	M+H[1+]	L-Lösin	4.9	+
9		132.1020	1.0	M+H[1+]	L-İzolösin	4.9	+
10	3	134.0606	0.9	M-H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> +H[1+]	Norepinefrin	4.6	+
11		134.0606	0.9	M-HCOOH+H[1+]	Hippurik asit	4.6	+
12		134.0606	0.9	M-H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> +H[1+]	Piridoksin	4.6	+
13	4	145.0510	0.9	M-H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> +H[1+]	Paraksantin	8.7	+
14		145.0510	0.9	M-H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> +H[1+]	R-Teobromin	8.7	+
15	5	154.1344	0.9	M+H+Na[2+]	Stearik asit	13.6	+
16	6	156.0447	0.9	M-H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> +H[1+]	5-Hidroksiindoleasetik asit	3.0	-
17		156.0447	0.9	M-H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> +H[1+]	5-Fenil-1,3-oksazinan-2,4-dion	3.0	-
18	7	163.0614	0.9	M-H <sub>2</sub> O+H[1+]	Paraksantin	11.1	+
19		163.0614	0.9	M-H <sub>2</sub> O+H[1+]	Teobromin	11.1	+
20		163.0614	0.9	M-HCOOH+H[1+]	Dihidrolipoat	11.1	+
21	8	166.0858	1.0	M+H[1+]	L-fenilalanin	9.4	+
22		166.0858	1.0	M-H <sub>2</sub> O+H[1+]	Epinefrin	9.4	+
23	9	168.0686	0.9	M+H <sub>2</sub> O+H[1+]	L-Metionin	17.5	+
24	10	191.0426	0.9	M+HCOONa[1+]	Niasinamid	8.6	+
25	11	211.0863	0.9	M+NaCl[1+]	Perilil alkol	40.0	+
26		211.0863	0.9	M+NaCl[1+]	(+)-trans-Carveol	40.0	+
27		211.0863	0.9	M+NaCl[1+]	Alfa-pinen-oksit	40.0	+
28		211.0863	0.9	M+NaCl[1+]	(-)-trans-Carveol	40.0	+
29	12	244.0935	0.9	M+H[1+]	Sitidin	3.8	+
30	13	289.0739	0.9	M+H <sub>2</sub> O+H[1+]	Nordiazepam	2.5	+
31	14	296.0582	0.9	M+3H[3+]	Fenilasetil-CoA	7.3	+
32	15	337.0974	0.9	M+NaCl[1+]	Pantetein	3.7	+
33		337.1916	11.8	M+NaCl[1+]	gama-linolenik asit	4.2	-
34		337.1916	11.8	M+NaCl[1+]	alfa-linolenik asit	4.2	-
35	16	419.3296	15.8	M+Na[1+]	5-dehidroepisterol	5.4	-
36		419.3296	15.8	M+Na[1+]	3-keto-4-metilzimosterol	0.0	-

\* Tohumun (T) meyveye (M) kıyasla metabolit miktarının +, arttığını; -, azaldığını göstermektedir.

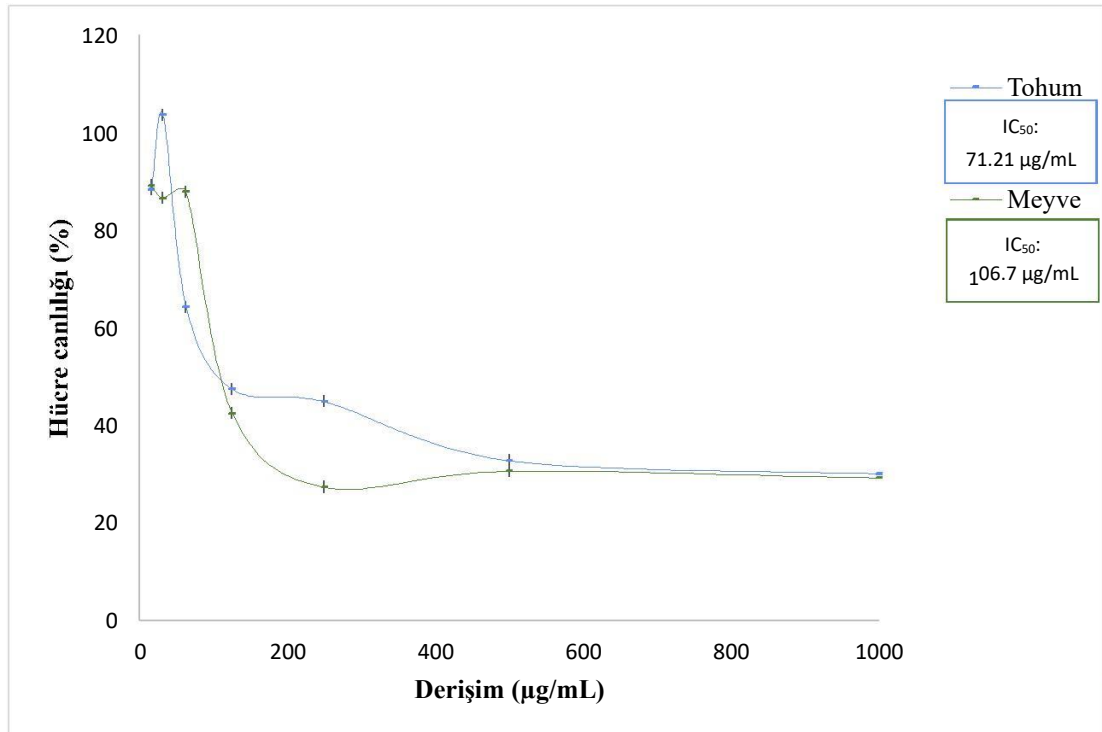
\*\* MFC, Tohumun meyveye kıyasla metabolit miktarının kaç kat değiştiğinin bir ölçüsüdür.



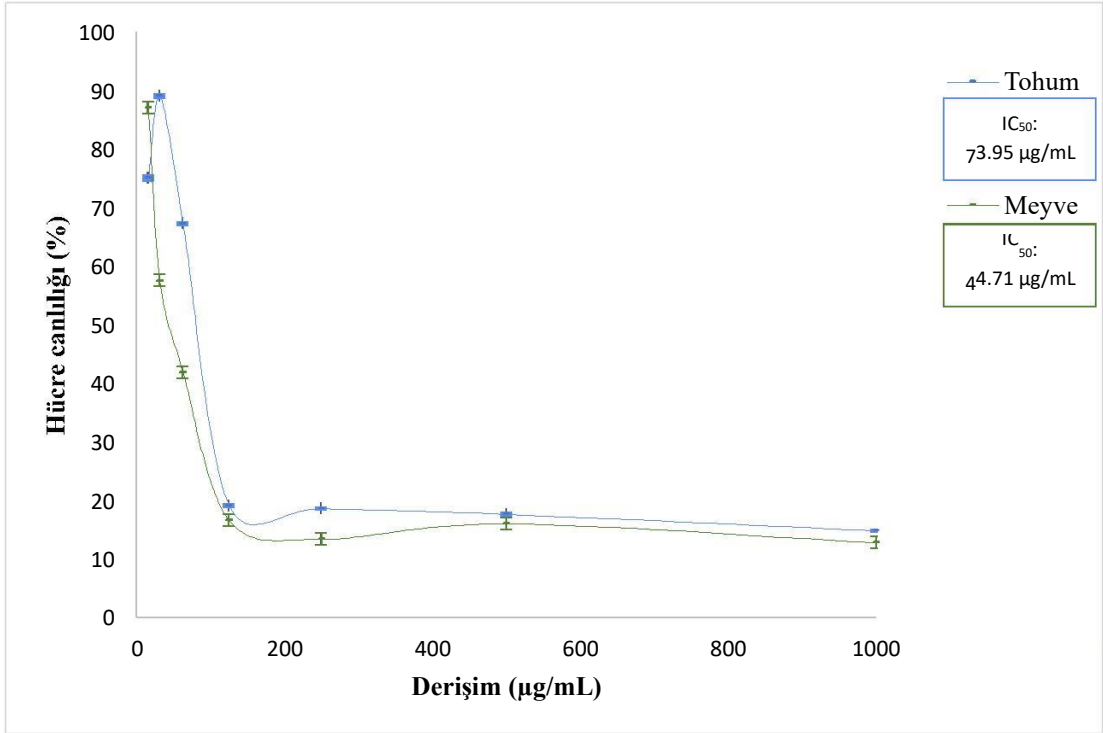
#### 4.2. Melanom Hücre Hattı LC/ Q-TOF MS Analizlerine Ait Bulgular

Çeşitli enzim inhibe edici bileşiklerin bağlı güçlerini karşılaştırmak için nicel bir ölçüm yapılmalıdır,  $IC_{50}$  değerleri sıklıkla kullanılmaktadır (267).  $IC_{50}$ , yarı maksimum inhibe edici derişim olarak bilinmektedir (268).

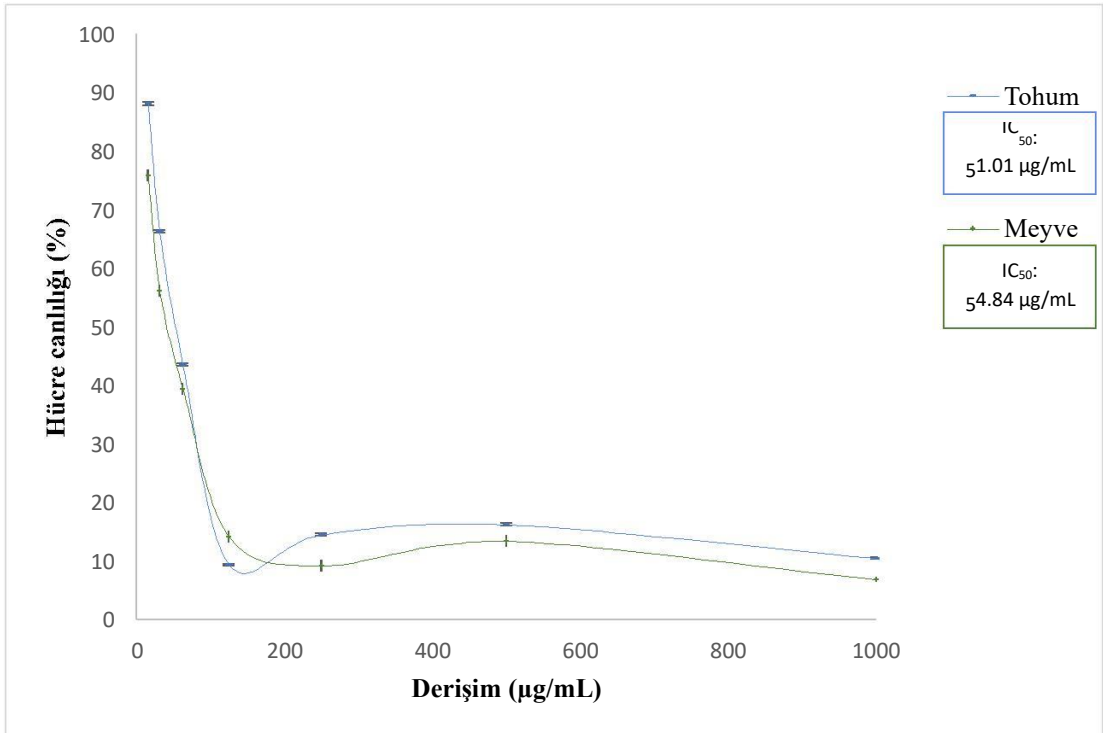
Sitotoksisite, hücre canlılığı ve hücre proliferasyonunun belirlenmesi için birçok yöntem kullanılmaktadır. Kolorimetrik yöntemler ucuz, güvenilirlikleri yüksektir, tekrarlanabilir yüksek ve hızlıdır. Birçok hücre kültürü çalışmasında  $IC_{50}$  değerleri kullanılarak analiz yapılmaktadır (269). 24 saat, 48 saat ve 72 saat için derişime karşı hücre canlılığını (%) gösteren grafikler sırasıyla Şekil 4.5., 4.6. ve 4.7.'de verilmiştir.



Şekil 4.5. Derişime karşı hücre canlılığı (%) değişimleri (24 saat).

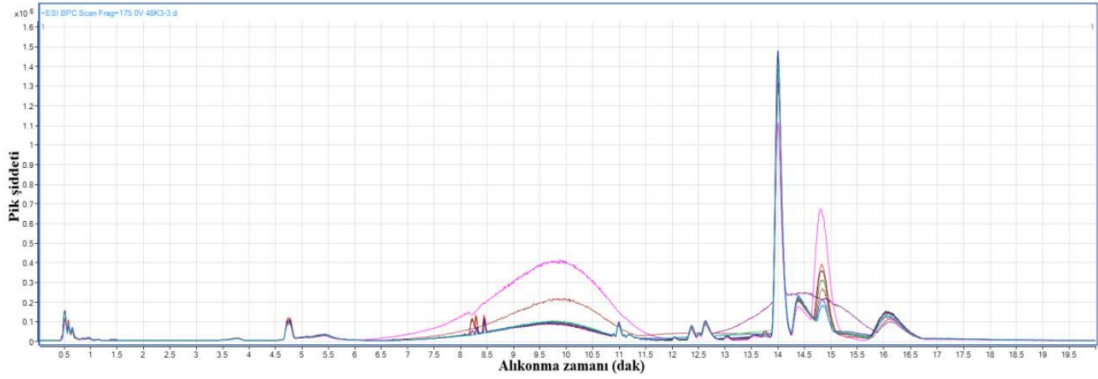


Şekil 4.6. Derişime karşı hücre canlılığı (%) değişimleri (48 saat).

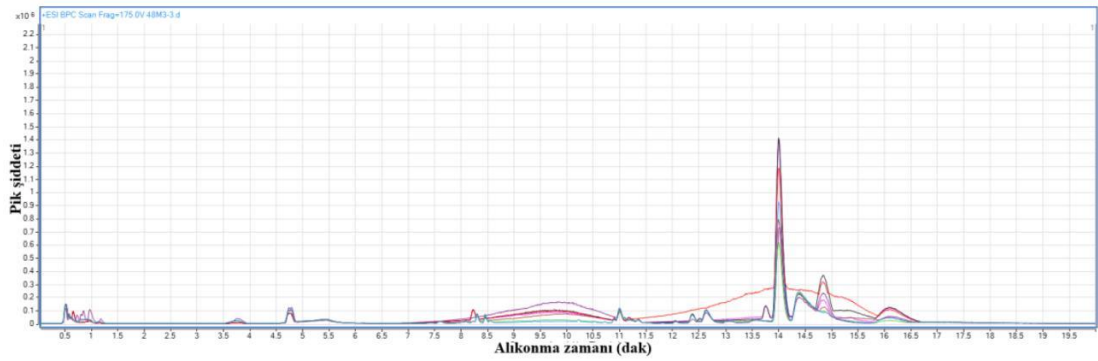


Şekil 4.7. Derişime karşı hücre canlılığı (%) değişimleri (72 saat).

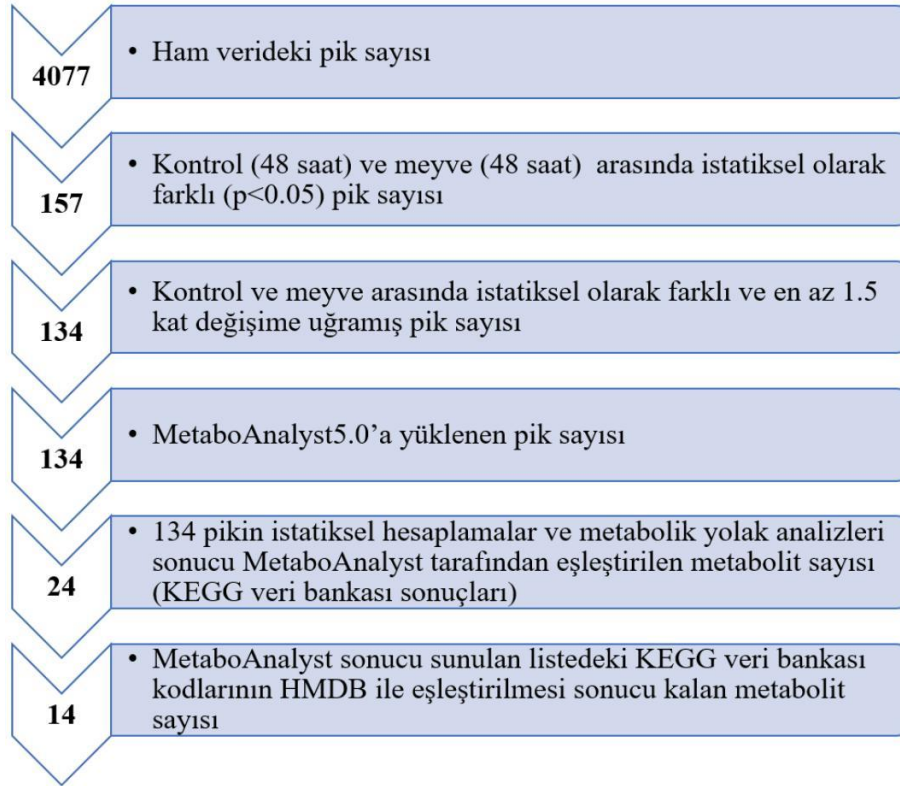
Melanom hücre hattının 48 saat inkübasyon sonucu LC/Q-TOF MS enjeksiyonları için kontrol, meyve ve tohumun temel pik kromatogramları sırasıyla Şekil 4.8., 4.9. ve 4.11.'de verilmiştir. Tohum, meyve ve kontrol için metabolom düzeyindeki farklılıkları gösteren PCA grafiği Şekil 4.14.'de verilmiştir. Veri analizi sırasındaki pik sayıları meyve ve tohum için sırasıyla Şekil 4.10. ve 4.12.'de verilmiştir. Kontrol/meyve ve kontrol/tohum arasında istatistiksel olarak farklı ve en az 1.5 kat değişime uğramış pik sayıları Şekil 4.13.'de verilmiştir. MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolitler meyve ve tohum için sırasıyla Tablo 4.3. ve 4.4.'de verilmiştir.



Şekil 4.8. Kontrol (48 saat) için temel pik kromatogramları.



Şekil 4.9. Meyve (48 saat) için temel pik kromatogramları.



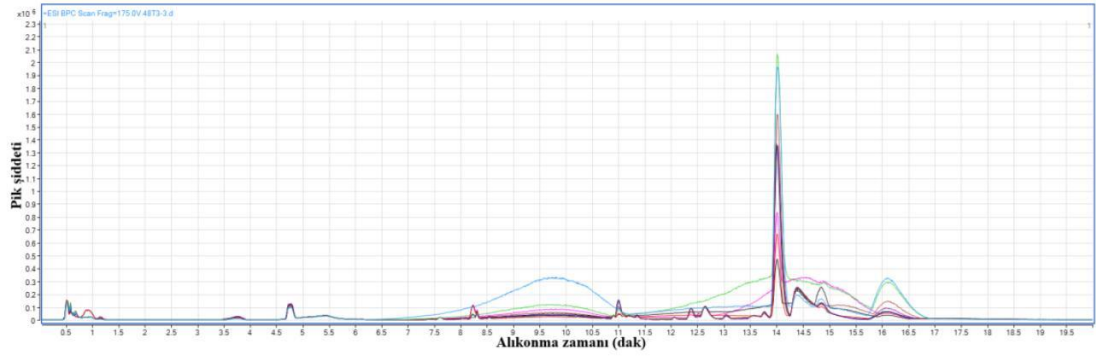
Şekil 4.10. Meyve/Kontrol için veri analizi sonucu pik sayıları (48 Saat).

**Tablo 4.3.** MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolitler (48 saat, Meyve/Kontrol).

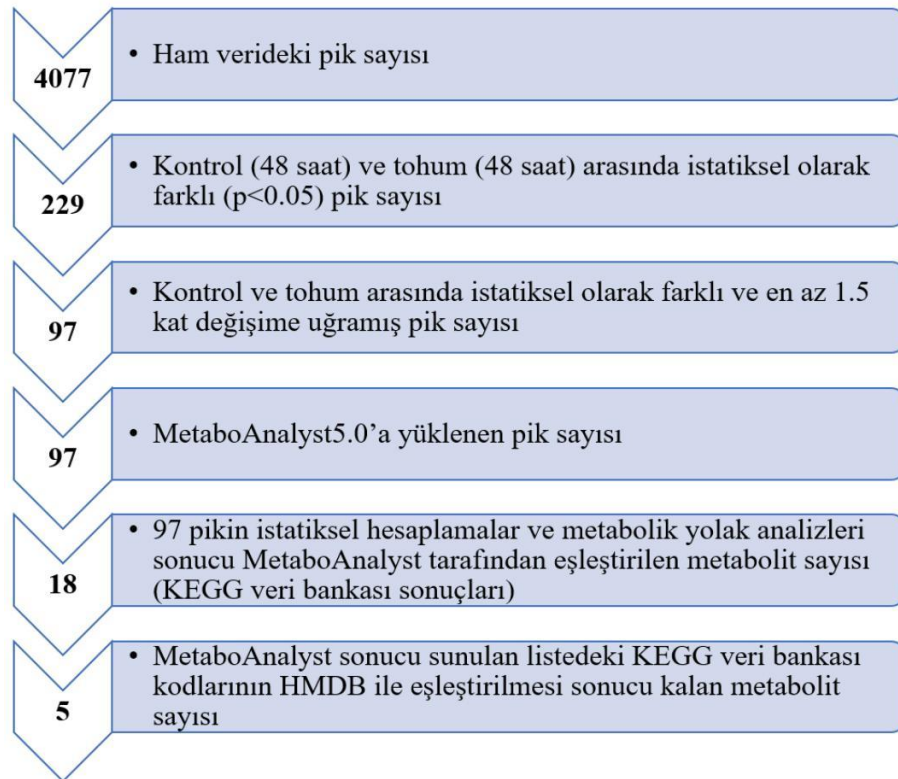
Metabolit	Pik	m/z	Rt (dak)	Eşleşen form	Metabolit adı	MFC**	+/-* (Meyve/Kontrol)
1	1	162.1126	0.6	M+H[1+]	L-Karnitin	1.8	-
2		162.1126	0.6	M[1+]	Malonil-karnitin	1.8	-
3	2	176.0685	0.7	M+Na[1+]	Dopamin	2.6	+
4	3	197.1010	9.2	M+Na[1+]	L-Arjinin	1.8	+
5		197.1010	9.2	M+Na[1+]	D-Arjinin	1.8	+
6	4	217.1003	1.9	M-CO+H[1+]	Biyotin	4.1	+
7	5	233.0824	0.8	M+NaCl[1+]	N-Metiltriptamin	4.9	+
8	6	335.2836	10.7	M+H+Na[2+]	CE(12:0)	1.6	+
9		409.3462	10.4	M-H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> +H[1+]	3-beta-hidroksi-4-beta-metil-5- alfa-kolest-7-en-4-alfa- karboksilat	6.2	+
10	7	409.3462	10.4	M+Na[1+]	Latosterol	6.2	+
11		409.3462	10.4	M+Na[1+]	5a-Kolest-8-en-3b-ol	6.2	+
12		409.3462	10.4	M+Na[1+]	Kolesterol	6.2	+
13	8	522.2670	9.6	M+K[1+]	Litokolitaurin	3.3	+
14	9	568.3492	10.4	M+NaCl[1+]	LysoPC(O-18:0)	3.8	+

\* Meyvenin kontrole kıyasla metabolit miktarının +, arttığı; -, azaldığını göstermektedir.

\*\* MFC, Meyvenin kontrole kıyasla metabolit miktarının kaç kat değiştiğinin bir ölçüsüdür.



Şekil 4.11. Tohum (48 saat) için temel pik kromatogramları.



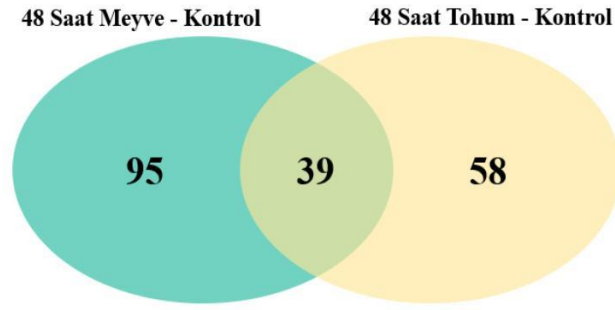
Şekil 4.12. Tohum/Kontrol için veri analizi sonucu pik sayıları (48 Saat).

**Tablo 4 4.** MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolitler (48 saat, Tohum/Kontrol).

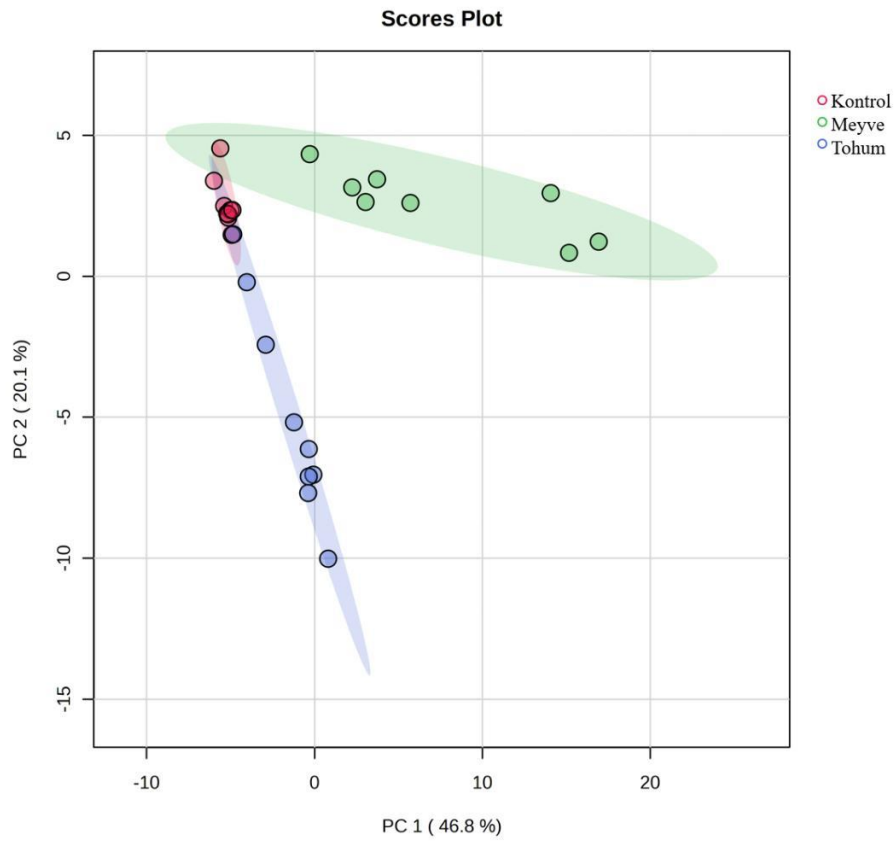
Metabolit	Pik	m/z	Rt (dak)	Eşleşen form	Metabolit adı	MFC**	+/- (Tohum/Kontrol)
1		177.1024	4.8	M+H[1+]	Serotonin	1.6	+
2		177.1024	4.8	M-CO+H[1+]	L-Triptofan	1.6	+
3	1	177.1024	4.8	M-CO+H[1+]	D-Triptofan	1.6	+
4		177.1024	4.8	M-CO <sub>2</sub> +H[1+]	5-Hidroksi-L-triptofan	1.6	+
5		177.1024	4.8	M-C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> +H[1+]	6-Hidroksimelatonin	1.6	+

\* Tohumun kontrole kıyasla metabolit miktarının +, arttığını; -, azaldığını göstermektedir.

\*\* MFC, Tohumun kontrole kıyasla metabolit miktarının kaç kat değiştiğinin bir ölçüsüdür.



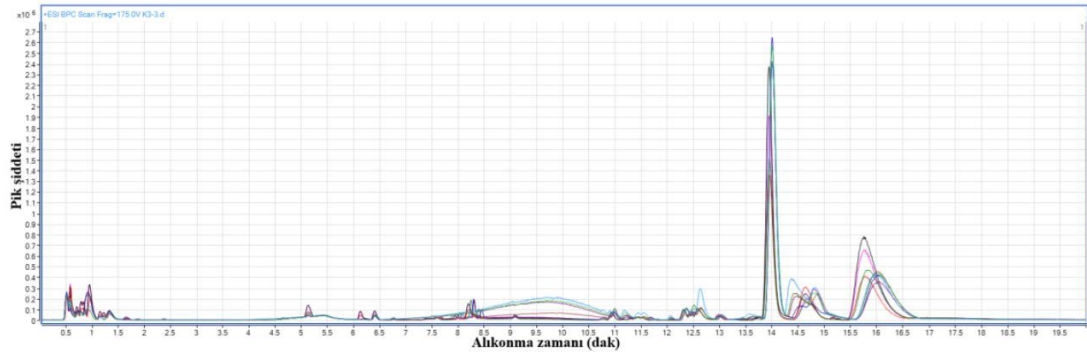
**Şekil 4.13.** Kontrol/meyve ve kontrol/tohum arasında istatistiksel olarak farklı ve en az 1.5 kat değişime uğramış pik sayıları (48 saat).



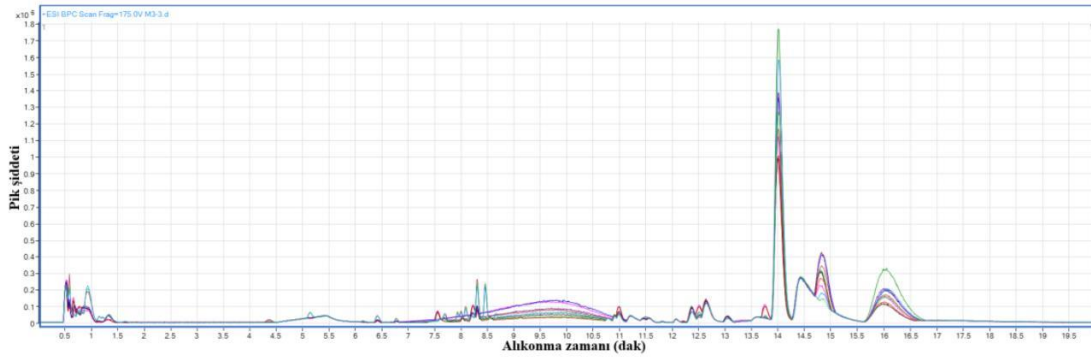
**Şekil 4.14.** Metabolom düzeyinde kontrol, meyve ve tohumun istatistiksel farkını gösteren PCA grafiği (48 saat).



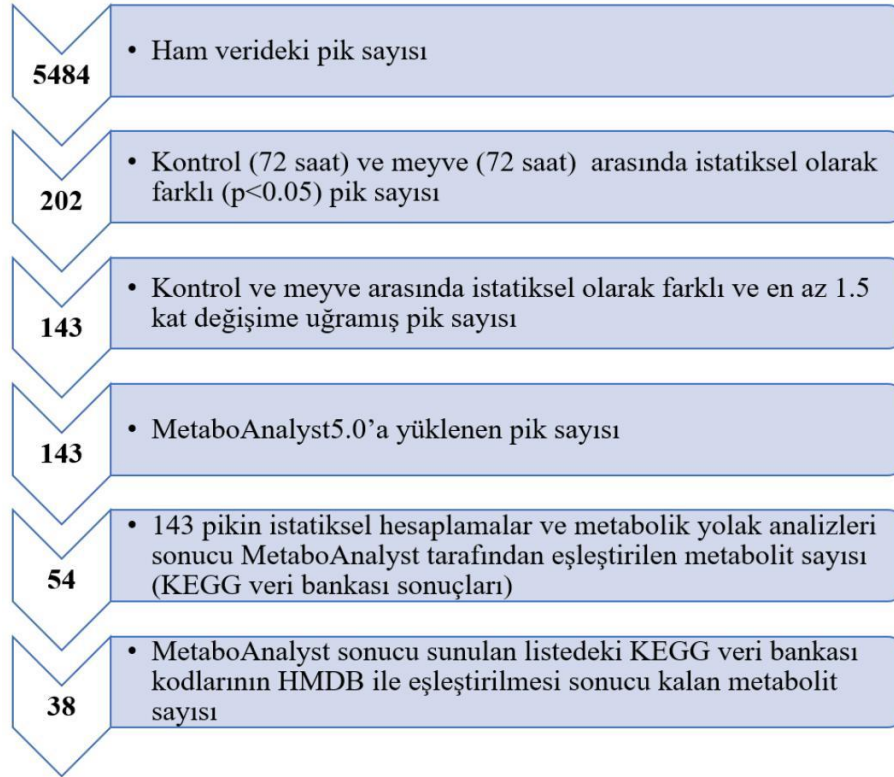
72 saat inkübasyon sonucu LC/Q-TOF MS enjeksiyonları için kontrol, meyve ve tohumun temel pik kromatogramları sırasıyla Şekil 4.15., 4.16. ve 4.18.'de verilmiştir. Tohum, meyve ve kontrol için metabolom düzeyindeki farklılıkları gösteren PCA grafiği Şekil 4.21.'te verilmiştir. Veri analizi sırasındaki pik sayıları meyve ve tohum için sırasıyla Şekil 4.17. ve 4.19.'da verilmiştir. Kontrol/meyve ve kontrol/tohum arasında istatistiksel olarak farklı ve en az 1.5 kat değişime uğramış pik sayıları Şekil 4.20.'de verilmiştir. MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolitler meyve ve tohum için sırasıyla Tablo 4.5.ve 4.6.'da verilmiştir. Meyve ve tohum için ortak olan metabolitler Tablo 4.7.'de verilmiştir.



Şekil 4.15. Kontrol (72 saat) için temel pik kromatogramları.



Şekil 4.16. Meyve (72 saat) için pik temel pik kromatogramları.



Şekil 4.17. Meyve/Kontrol için veri analizi sonucu pik sayıları (72 Saat).

**Tablo 4.5.** MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolitler (72 saat, Meyve/Kontrol).

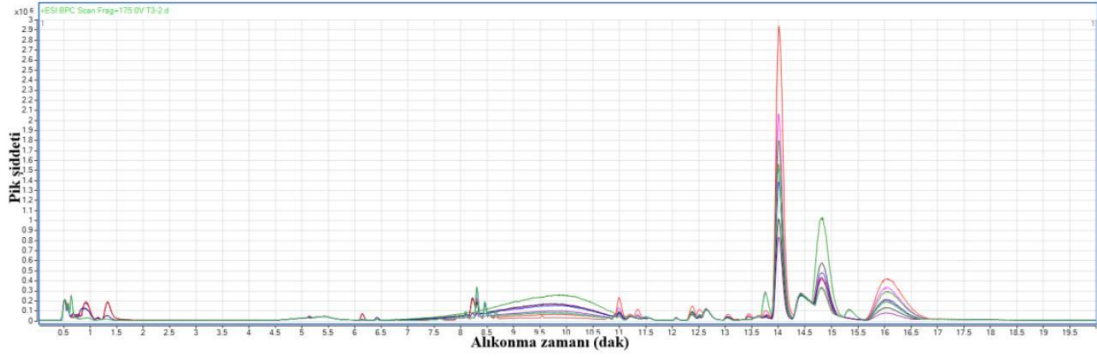
Metabolit	Pik	m/z	Rt (dak)	Eşleşen form	Metabolit Adı	MFC**	+/- (Meyve/Kontrol)
1	1	114.0375	6.4	M-H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> +H[1+]	L-Metionin	1.7	-
2	2	195.0196	6.4	M+K[1+]	2-Naftaldehit	2.8	-
3		195.0196	6.4	M+K[1+]	1-Naftaldehit	2.8	-
4	3	212.0454	0.6	M+NaCl[1+]	Dopamin	2.8	-
5	4	241.0312	4.5	M+H[1+]	L-Sistin	2.6	-
6		241.0312	4.5	M+HCOONa[1+]	3-Dehidroşikimat	2.6	-
7	5	280.0959	0.6	M-CO+H[1+]	Glutasyon	1.6	-
8		300.2890	10.2	M+H[1+]	3-Ketosfinganin	1.9	+
9	6	300.2890	10.2	M+H[1+]	Sfingosin	1.9	+
10		300.2890	10.2	M-H <sub>2</sub> O+H[1+]	Fitosfingosin	1.9	+
11		325.2380	12.1	M-CO+H[1+]	Prostaglandin D2	1.6	+
12		325.2380	12.1	M-CO+H[1+]	20-Hidroksi-Lökotrien B4	1.6	+
13		325.2380	12.1	M-CO+H[1+]	Lipoksin B4	1.6	+
14		325.2380	12.1	M-CO+H[1+]	Lipoksin A4	1.6	+
15		325.2380	12.1	M-CO+H[1+]	Prostaglandin E2	1.6	+
16		325.2380	12.1	M-CO <sub>2</sub> +H[1+]	6-Ketoprotaglandin E1	1.6	+
17	7	325.2380	12.1	M-CO+H[1+]	(13E)-11a-hidroksi-9,15-dioksoprost-13-enoik asit	1.6	+
18		325.2380	12.1	M-CO+H[1+]	13,14-dihidro-15-keto-PGE2	1.6	+
19		325.2380	12.1	M-CO+H[1+]	Prostaglandin I2	1.6	+
20		325.2380	12.1	M-CO <sub>2</sub> +H[1+]	Prostaglandin G2	1.6	+
21		325.2380	12.1	M-HCOOH+H[1+]	Tromboksan B2	1.6	+
22		325.2380	12.1	M-CO+H[1+]	Tromboksan A2	1.6	+
23		325.2380	12.1	M-CO+H[1+]	Prostaglandin H2	1.6	+

**Tablo 4.5.** (Devam) MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolitler (72 saat, Meyve/Kontrol).

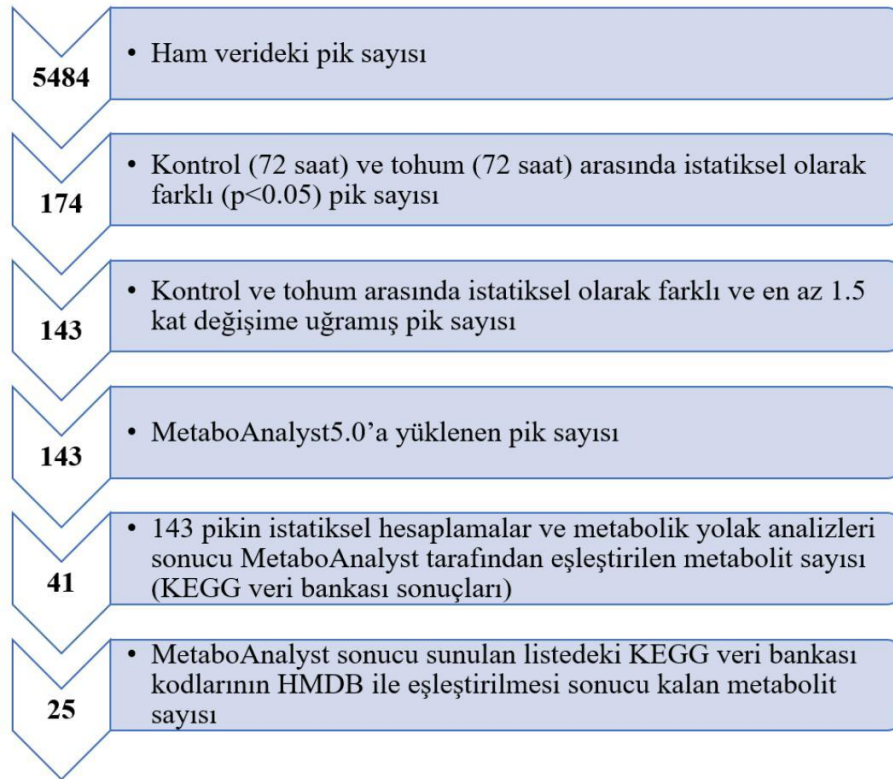
Metabolit	Pik	m/z	Rt (dak)	Eleşen form	Metabolit Adı	MFC**	+/- (Meyve/Kontrol)
24	8	341.2845	15.0	M-H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> +H[1+]	Litokolik Asit	2.2	+
25		385.3829	11.5	M-HCOOH+H[1+]	Alfa-tokoferol	108.6	-
26		385.3829	11.5	M-CO+H[1+]	Avenasterol	108.6	-
27	9	385.3829	11.5	M-CO+H[1+]	4a-metilfekosterol	108.6	-
28		385.3829	11.5	M-CO+H[1+]	Delta7-avenasterol	108.6	-
29		385.3829	11.5	M-CO+H[1+]	24-metilenlofenol	108.6	-
30	10	409.3308	15.5	M+HCOONa[1+]	Behenik Asit	46.6	-
31	11	425.3772	11.0	M-HCOOH+H[1+]	4,4-dimetil-5a-kolesta-8,24-dien-3-b-ol	2.0	+
32		427.3926	12.0	M+H[1+]	Obtusifoliol	1.6	+
33	12	427.3926	12.0	M+H[1+]	(S)-2,3-Epoksiskualen	1.6	+
34		427.3926	12.0	M+H[1+]	Lanosterin	1.6	+
35		427.3926	12.0	M-CO <sub>2</sub> +H[1+]	K1 Vitamini	1.6	+
36	13	495.3595	10.4	M+HCOOK[1+]	Skualen	549.3	+
37	14	505.4023	14.7	M-C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> +H[1+]	2-hekzaprenil-3-metil-5-hidroksi-6-metoksi-1,4-benzokinon	2.0	+
38		505.4023	14.7	M-C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> +H[1+]	3-hekzaprenil-4-hidroksi-5-metoksibenzoik asit	2.0	+

\* Meyvenin kontrole kıyasla metabolit miktarının +, arttığını; -, azaldığını göstermektedir.

\*\* MFC, Meyvenin kontrole kıyasla metabolit miktarının kaç kat değiştiğinin bir ölçüsüdür.



Şekil 4.18. Tohum (72 saat) için temel pik kromatogramları.



Şekil 4.19. Tohum/Kontrol için veri analizi sonucu pik sayıları (72 Saat).



**Tablo 4.6.** MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolitler (72 saat, Tohum/Kontrol).

Metabolit	Pik	m/z	Rt (dak)	Eşleşen form	Metabolit Adı	MFC**	+/-* (Tohum/Kontrol)
1	1	114.0375	6.4	M-H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> +H[1+]	L-Metiyonin	2.3	+
2	2	195.0196	6.4	M+K[1+]	2-Naftaldehit	4.1	-
3		195.0196	6.4	M+K[1+]	1-Naftaldehit	4.1	-
4	3	207.0368	7.6	M+HCOONa[1+]	Ürokanik Asit	2.6	-
5	4	212.0454	0.6	M+NaCl[1+]	Dopamin	2.0	+
6	5	241.0312	4.5	M+H[1+]	L-Sistin	7.1	-
7		241.0312	4.5	M+HCOONa[1+]	3-Dehidroşikimat	7.1	-
8	6	244.8751	0.6	M+3H[3+]	SM(D18:1/18:0)	1.8	-
9	7	246.8722	0.6	M+HCOOK[1+]	Triklorasetik Asit	1.7	-
10		385.3829	11.5	M-HCOOH+H[1+]	Alfa-Tokoferol	170.1	-
11		385.3829	11.5	M-CO+H[1+]	4,4-Dimetil-5a-kolesta-8,24-dien-3-b-ol	170.1	-
12	8	385.3829	11.5	M-CO+H[1+]	Avenasterol	170.1	-
13		385.3829	11.5	M-CO+H[1+]	4a-Metilfekoosterol	170.1	-
14		385.3829	11.5	M-CO+H[1+]	Delta7-Avenasterol	170.1	-
15		385.3829	11.5	M-CO+H[1+]	24-Metilenlofenol	170.1	-
16		395.3684	9.2	M-H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> +H[1+]	Alfa-Tokoferol	75.4	+
17		395.3684	9.2	M-H <sub>2</sub> O+H[1+]	4,4-Dimetil-5a-kolesta-8,24-dien-3-b-ol	75.4	+
18	9	395.3684	9.2	M-H <sub>2</sub> O+H[1+]	Avenasterol	75.4	+
19		395.3684	9.2	M-H <sub>2</sub> O+H[1+]	4a-Metilfekoosterol	75.4	+
20		395.3684	9.2	M-H <sub>2</sub> O+H[1+]	Delta7-Avenasterol	75.4	+
21		395.3684	9.2	M-H <sub>2</sub> O+H[1+]	24-Metilenlofenol	75.4	+

**Tablo 4.6.** (Devam) MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolitler (72 saat, Tohum/Kontrol).

Metabolit	Pik	m/z	Rt (dak)	Eşleşen form	Metabolit Adı	MFC <sup>**</sup>	+/- <sup>*</sup> (Tohum/Kontrol)
22	10	409.3308	15.5	M+HCOONa[1+]	Behenik Asit	44.9	-
23	11	425.3772	11.0	M-HCOOH+H[1+]	K1 Vitamini	2.0	+
24	12	438.3029	11.3	M-HCOOH+H[1+]	Lifokoliltaurin	2.9	+
25	13	495.3595	10.4	M+HCOOK[1+]	Skualen	111.1	+

\* Tohumun kontrole kıyasla metabolit miktarının +, arttığı; -, azaldığını göstermektedir.

\*\* Tohumun kontrole kıyasla metabolit miktarının kaç kat değiştiğinin bir ölçüsüdür.

**Tablo 4.7.** MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolitler (72 saat, Meyve/Kontrol ve Tohum/Kontrol ortak metabolitler).

Metabolit	Pik	m/z	Rt (dak)	Eşleşen form	Metabolit Adı	mDFC <sup>**</sup>	+/- <sup>*</sup> (M/K)	mDFC <sup>**</sup>	+/- <sup>*</sup> (T/K)
1	1	114.0375	6.4	M-H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> +H[1+]	L-Metiyonin	1,7	-	2.3	-
2	2	195.0196	6.4	M+K[1+]	2-Naftaldehit	2,8	-	4.1	-
3	3	195.0196	6.4	M+K[1+]	1-Naftaldehit	2,8	-	4.1	-
4	4	212.0454	0.6	M+NaCl[1+]	Dopamin	2,8	-	2.0	+
5	5	241.0312	4.5	M+H[1+]	L-Sistin	2,6	-	7.1	-
6	6	241.0312	4.5	M+HCOONa[1+]	3-Dehidroşikimat	2,6	-	7.1	-
7	7	385.3829	11.5	M-HCOOH+H[1+]	Alfa-Tokoferol	108,6	-	170.1	-
8	8	385.3829	11.5	M-CO+H[1+]	Avenasterol	108,6	-	170.1	-
9	9	385.3829	11.5	M-CO+H[1+]	4a-Metilfekosterol	108,6	-	170.1	-
10	10	385.3829	11.5	M-CO+H[1+]	Delta7-Avenasterol	108,6	-	170.1	-

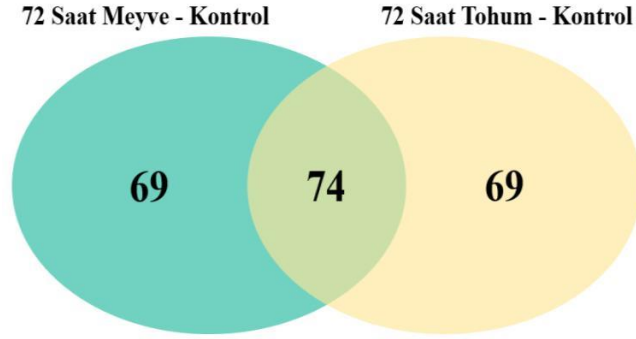
**Tablo 4.7.** (Devam) MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolitler (72 saat, Meyve/Kontrol ve Tohum/Kontrol ortak metabolitler).

Metabolit	Pik	m/z	Rt (dak)	Eşleşen form	Metabolit Adı	mDFC**	+/-* (M/K)	mDFC**	+/-* (T/K)
11		385.3829	11.5	M-CO+H[1+]	24-Metilenlofenol	108.6	-	170.1	-
12	6	409.3308	15.5	M+HCOONa[1+]	Behenik Asit	46.6	-	44.9	-
13	7	427.3926	12.0	M-CO <sub>2</sub> +H[1+]	K1 Vitamini	1.6	+	1.3	+
14	8	495.3595	10.4	M+HCOOK[1+]	Skualen	549.3	+	111.1	+

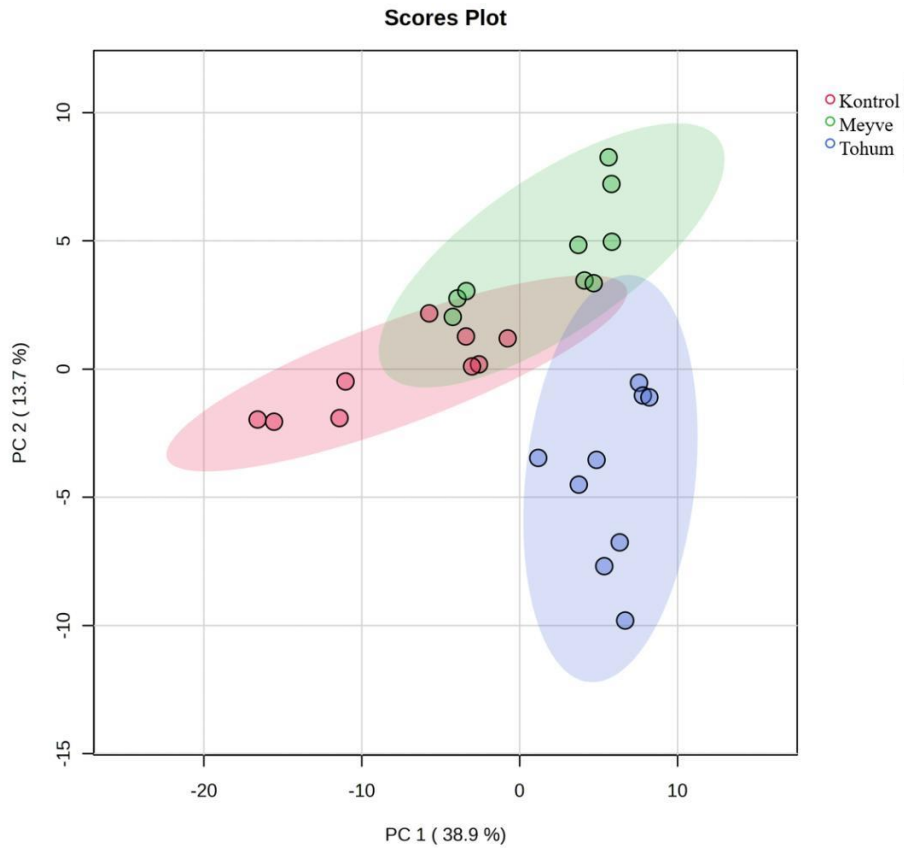
\* Meyvenin kontrole kıyasla ve tohumun kontrole kıyasla metabolit miktarının +, arttığını; -, azaldığını göstermektedir.

\*\* MFC, Meyvenin kontrole kıyasla ve tohumun kontrole kıyasla metabolit miktarının kaç kat değiştiğinin bir ölçüsüdür.



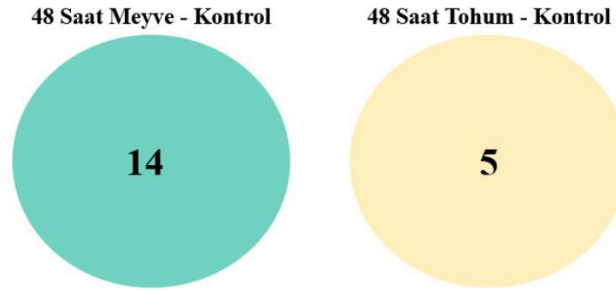


**Şekil 4.20.** Kontrol/meyve ve kontrol/tohum arasında istatistiksel olarak farklı ve en az 1.5 kat değişime uğramış pik sayıları (72 saat).

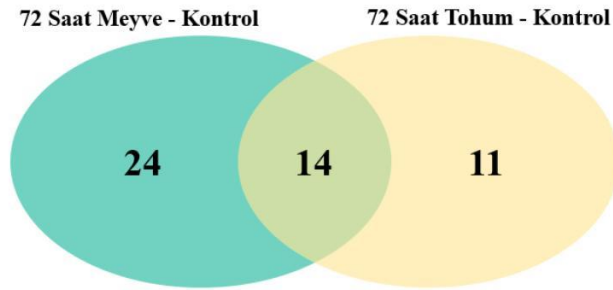


**Şekil 4.21.** Metabolom düzeyinde kontrol, meyve ve tohumun istatistiksel farkını gösteren PCA grafiği (72 saat).

MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolit sayısı 48 saat ve 72 saat için sırasıyla Şekil 4.22. ve 4.23.'de verilmiştir. Kontrol (48 saat) ve kontrol (72 saat); meyve (48 saat) ve meyve (72 saat) ve tohum (48 saat) ve tohum (72 saat) temel pik kromatogramları sırasıyla Şekil 4.24., 4.25. ve 4.26.'da verilmiştir.

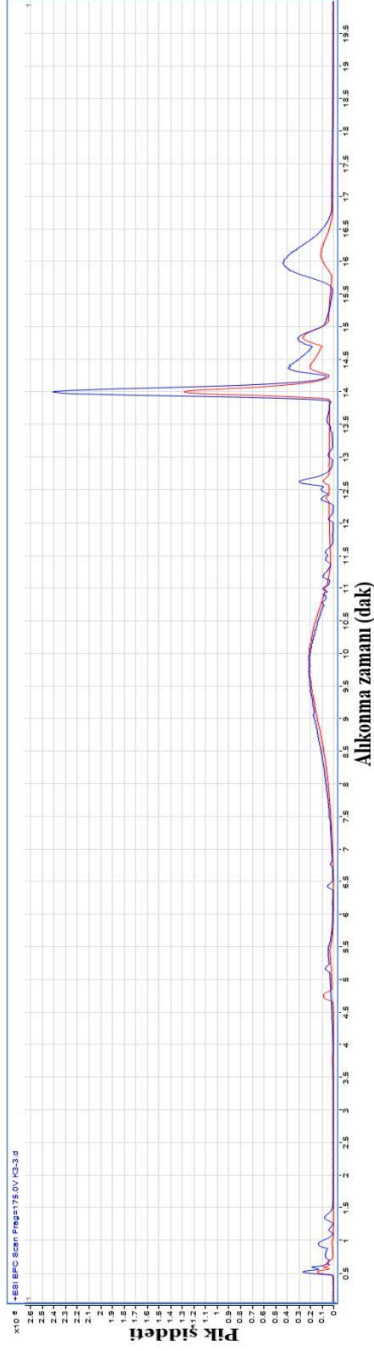


**Şekil 4.22.** Kontrol/meyve ve kontrol/tohum arasında MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolit sayısı (48 saat).

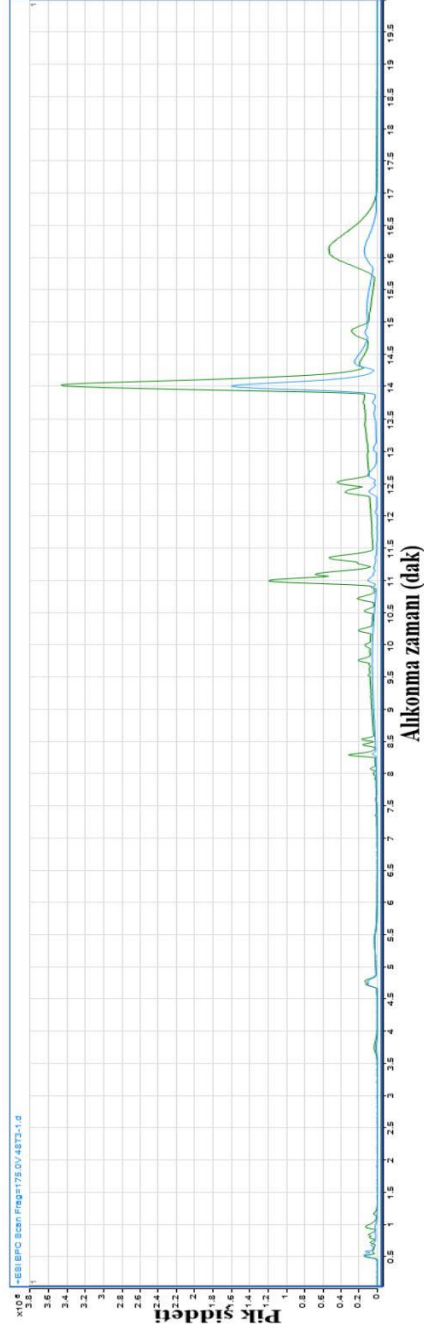


**Şekil 4.23.** Kontrol/meyve ve kontrol/tohum arasında MetaboAnalyst sonucu sunulan listedeki KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi sonucu kalan metabolit sayısı (72 saat).

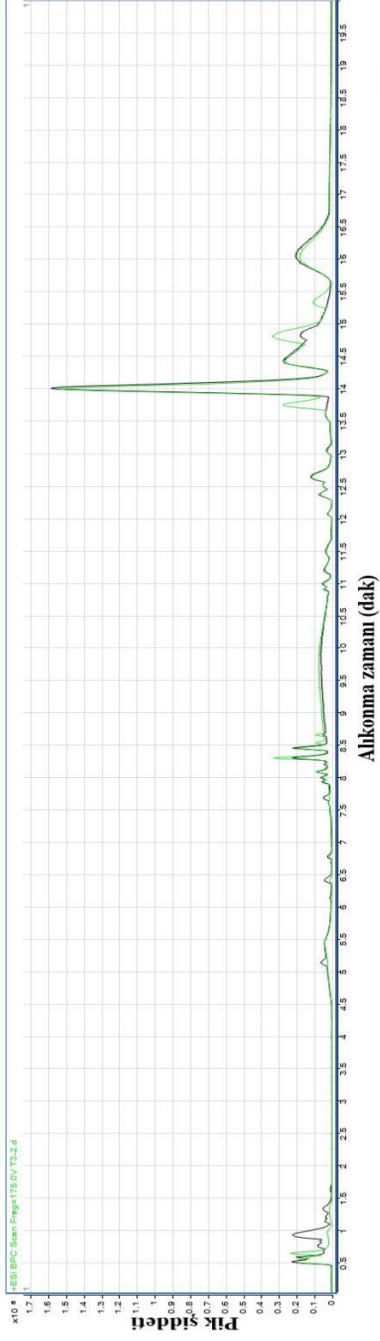
Meyve ve tohumun melanom hücre hatlarında 48 ve 72 saat inkübasyon sonucu kromatogramları ayrı ayrı verilmiştir ancak karşılaştırmak için aynı kromatogram içerisinde üst üste çakıştırılmış halde Şekil 4.24.'de kontrol (48 saat) ve kontrol (72 saat) için temel pik kromatogramı, Şekil 4.25.'de meyve (48 saat) ve meyve (72 saat) için temel pik kromatogramları ve Şekil 4.26.'da tohum (48 saat) ve tohum (72 saat) için temel pik kromatogramları verilmiştir.



**Şekil 4.24.** Kontrol (48 saat, kırmızı) ve kontrol (72 saat, mavi) için temel pik kromatogramları.



**Şekil 4.25.** Meyve (48 saat, mavi) ve meyve (72 saat, yeşil) için temel pik kromatogramları.



**Şekil 4.26.** Tohum (48 saat, siyah) ve tohum (72 saat, yeşil) için temel pik kromatogramları.

## 5. TARTIŞMA

Hali hazırda piyasada bulunan ilaçların birçoğu (afyon, aspirin, digitalis ve kinin) doğal ilaçlardır. DSÖ'ye göre, ABD'de kullanılan mevcut ilaçların yaklaşık %25'i bitkilerden elde edilmektedir. Farmakopede yaklaşık 7000 restoratif karışım bitkilerden elde edilmektedir (270). Giriş kısmında da bahsedildiği gibi çeşitli hastalıklarda kullanılan bitkiler, doğal kaynaklar olarak önem taşımaktadır. Bitkiler, potansiyel terapötik etkiye sahiptir ve çeşitli hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmaktadırlar. Bu tez kapsamında yara bakım özelliği olabilecek bitkiler incelenmiş ve literatür taraması doğrultusunda yara iyileştirici özelliği sınırlı kaynakta belirtilmiş, içeriği üzerine sayılı araştırma yapılmış, temel aktif bileşen olarak kukurbitasin grubu bileşenler içeren *Momordica charantia* L.'nin melanom üzerine çoğalmayı önleyici (antiproliferatif) etkisinin B16-F10 fare melanom hücre hatlarında *in vitro* incelenmesine karar verilmiştir. Çoğalmayı önleyici etki mekanizmasının anlaşılabilmesi için bitki metabolomiği çalışmaları gerçekleştirilmiş ve de *in vitro* çoğalmayı önleyici etki hedeflenmemiş metabolomik çalışmalarla moleküler düzeyde incelenmiştir. Genel Bilgiler'in Yara İyileşmesinde ve Cilt Kanserinde Kullanılan Ürünler başlığı altında yara iyileştirici olarak kullanılan *Aloe vera* gibi çeşitli bitkilere yer verilmiştir. Bu durum açıkça ortaya koymaktadır ki; yara iyileştirme özelliği sebebiyle *Aloe vera* vb. pek çok bitki yukarıda anlatıldığı üzere halihazırda tedavi kullanılmaktadır hatta bir kısmı ruhsatlanmıştır. Genel Bilgilerin *Momordica charantia* L.'nin Yara İyileştirici Etkileri ve *Momordica charantia* L.'nin Antikanser Etkileri kısımlarında anlatıldığı gibi yara iyileştirici ve kanserle ilişkili az sayıda çalışması bulunmaktadır ve moleküler mekanizması neredeyse hiç aydınlatılmamıştır. Tablo 2.10.'da *Momordica charantia* L.'nin antiinflamatuvar ve antikanser etki mekanizmasına yönelik çalışmalar verilmiştir. Tüm bunlar motive edici olmuştur ve yara iyileştirici olarak kullanılacak *Momordica charantia* L. bitkisi moleküler düzeyde araştırılmak için seçilmiştir.

İlk olarak *Momordica charantia* L. bitkisinin olgun meyvesi toplanmıştır ve meyve ve tohum ekstre edilmiştir. Metanol, bitkideki sekonder metabolitleri de içeren birçok maddeyi çözebilmektedir. Gereç ve Yöntem kısmında anlatıldığı gibi metanol kullanılarak hem polar ve hemde apolar bileşenlerin birçoğunun ekstre edilmesi amaçlanmıştır. Metanol ekstraktları daha sonra C18 kolon kullanılarak

LC/Q-TOF MS yöntemi ile analiz edilmiştir. C18 kolon, hem polar hem de apolar bileşenlerin analizini kapsayabilmek amacıyla kullanılmıştır. Bu analiz yapılırken gradient elüsyon programı kullanılmıştır (Bkz. Tablo 3.7.). Bu elüsyonda ilk olarak su fazı %55 iken, daha sonra kolonda kalan ve elüe olmayan organik ve apolar bileşenlerin elüe edilmesi için asetonitril fazının yüzdesi enjeksiyonun 15. dakikasında %90'a çıkarılmıştır. Buna göre yapılan analiz sonucunda meyve ve tohum metanol ekstraktlarının temel pik kromatogramları üst üste örtüşmüştür ve 10. dakikadan sonra değişiklik gözlenmiştir. 10. dakikadan sonra kolondan genelde apolar bileşikler elüe olduğu için apolar bileşenler bazında meyve ve tohum birbirinden farklı görülmüştür (Bkz. Şekil 4.1.). Bu farklılığı istatistiksel olarak ortaya koyabilmek için PCA kullanılmıştır. PCA, metabolomik analizlerde gruplar arası farklılaşmayı göstermek için sık kullanılan yöntemlerden bir tanesidir (271). PCA grafiğinden de anlaşıldığı gibi meyve ve tohumun metabolom düzeyinde birbirinden farklı olduğu görülmüştür (Bkz. Şekil 4.2.). Bu farklılığın neler olduğunu ortaya koyabilmek için Volcano plot grafiği çizilmiştir (Bkz. Şekil 4.3.). Volcano plot da metabolomik analizlerde sıklıkla kullanılan bir grafik gösterme yöntemidir (272). Bu grafiğin ortasındaki dikey çizgiler arasında kalan kısımlar ve aşağıdaki yatay çizginin altında kalan kısımlar meyve ve tohumda ortak olan metabolitlerdir. Mavi ve kırmızı kısımlar ise meyve ve tohumdaki miktarı artmış veya azalmış metabolitleri göstermektedir. Azalmış olanlar mavi, artmış olanlar kırmızı ile gösterilmiştir ve m/z değerleri Volcano plot üzerinde işaretlenmiştir. Ham veri tek başına bir şey ifade etmeyeceği için ham veri üzerinden eşleşen metabolitlerin listesi ortaya çıkarılarak bu listeden, bitkilerde bulunan metabolitler üzerine tartışma yoluna gidilmiştir. Bitki metabolomiğinde veri işleme hem XCMS ile hem de MSDial ile yapılmıştır. XCMS için optimum parametreler IPO ile bulunurken (Bkz. **EK-1**), MSDial için herhangi bir optimizasyon gerçekleştirilmeden "default" parametrelerden yararlanılmıştır. Her ikisinde de PCA grafiği ile ayırım net bir şekilde görülmüştür (Bkz. Şekil 4.2.). Ancak MSDialde tohumdaki göreceli miktarı meyveye göre daha fazla olan metabolitlerin sayısı XCMS'e göre daha fazla bulunmuştur. Bu sonuçlar bir akış şemasına geçirilmiştir (Bkz. Şekil 4.4.). Metabolik yolak analizleri sonucu MetaboAnalyst tarafından eşleştirilen metabolit sayısı XCMS'te 188, MSDial'de 126'dır. KEGG veri bankası kodlarının HMDB ile eşleştirilmesi ile XCMS'de 97,

MSDial'de 58 metabolitin eşleştirilmesi olmuştur. Bunun sonucunda 8 adet, meyve ve tohumda bulunan metabolitin önemli olduğu sonucuna varılmış (Tablo 4.1.) ve Bunların bazıları meyvede bazıları tohumda farklılaşmıştır.

*XCMS yazılımı ile yapılan bitki metabolomiğinin veri analizinin sonucunda;*

Sonuç olarak 8 metabolit [(R)-Salsolinol, Pantetein, Kumarin, Triptamin, LysoPC(O-18:0), Glukosilseramid, Preskualen difosfat, Piroglutamik asit] bulunmuş ve literatür araştırması ile doğrulanmıştır. *Momordica* cinsinde var olduğu bilinen metabolitler, tohum ve meyve özelinde karşılaştırılmıştır.

Ooi ve ark. tarafından yayınlanan bir çalışmada tip 2 diabetes mellitus tedavisi için KN kullanımı gözden geçirilmiştir (273). Başka bir çalışmada, Tang ve ark. tip 2 diabetes mellitus tedavisinde *Morus alba* Linne etanol ekstraktının farmakolojik ağını değerlendirmiştir (274). *Morus alba*'nın aktif bir bileşeni olan Salsolin'in beta-1 ve beta-2 adrenerjik reseptörler ve çözünen taşıyıcı aile 6 üyesi 2, 3 ve 4 proteinleri ile etkileşime girdiğini belirtmişlerdir. Salsolin, salsolinolün monometillenmiş metabolitidir ve deneylerimizde, KN'nın hem tohumlarında hem de meyvelerinde salsolinol (m/z: 180.1017, M+H[1+]) olarak tanımlanmıştır. Yakın zamanda yayınlanan bir çalışmada Su ve ark. tip 2 diyabetik farelerde salsolinolün hipoglisemik etkisini bildirmiştir (275).

Pantetein (m/z: 233.1330, M-HCOOH+H[1+]), B5 vitamininin en güçlü formu olarak kabul edilir ve KN'da tanımladığımız bir diğer bileşiktir. Diabetes mellitus, hiperlipidemi ve ateroskleroz tedavisinde kullanılması uzun zamandır kullanılan bir bileşik olmuştur (276, 277). Hem salsolinol hem de pantetein, meyve özlerine kıyasla tohumlarda daha yüksek seviyede olduğu görülmüştür. Salsolinol, daha iyi bilinen sitotoksik aktivitesinin (278) yanı sıra yara iyileştirici etkisi (279) bildirilen bir bileşiktir.

Deneysel sonuçlarımıza dayanarak, KN'da bulunduğu bildirilen metabolitlerden biri olan kumarin (m/z: 147.0442, M+H[1+]), tohumlarda meyvelere göre daha yüksek miktarlarda bulunmuştur (280). Li ve diğerleri tarafından bildirildiği üzere kumarinler, bitkilerde yaygın olarak bulunan ve esas olarak antikoagülasyon ve antitrombotik tedavide kullanılan ikincil metabolitlerdir. Bununla birlikte, kumarinler ve türevlerinin diyabet ve komplikasyonları üzerindeki etkileri ile ilgili artan sayıda literatür bulunmaktadır (281).

Yakın tarihli bir çalışmada, Japonya'da yaygın olarak kullanılan taze meyve ve sebzelerde serotonin, triptofan ve triptamin düzeylerinin eş zamanlı analizi yapılmıştır (282). KN'da triptamin düzeyi  $0,37 \pm 0,04 \mu\text{g.g}^{-1}$  olarak rapor edilmiştir. Çalışmamızda, triptamin (m/z: 347.1541, M+Na[1+]) düzeyinin, tohumlarda meyvelere göre 4,2 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Literatürde triptamin ve türevlerinin diyabete karşı glikoz seviyesini düşürmek için kullanıldığı bildirilmiştir (283, 284). Bu sonuçlar, KN'nın tip 2 diabetes mellitusa karşı etkisini gösteren yakın zamanda yayınlanan çalışmaları (273) doğrulamaktadır.

Aremu ve ark. KN meyvesinin 12,62 g/100 g lizofosfatidilkolin ve fosfatidik asit içerdiğini bildirmiştir (285). KN'da konjuge yağ asidi metabolizması ile ilişkili genlerin değerlendirilmesine yönelik başka bir çalışmada, lizofosfatidilkolin'in varlığı genom seviyesinde doğrulanmıştır (286). Çalışmamızda yara iyileştirici özelliğe sahip bir fosfokolin olan LysoPC(O-18:0) (m/z: 492.38360, M-H<sub>2</sub>O+H[1+]) hem tohumda hem de meyvelerde belirlenmiş, ancak miktarı nispeten daha düşük bulunmuştur. Tohumlarda meyvelere göre daha düşük olduğu görülmüştür (18.4 x). (287). Çalışmamızda, *Momordica charantia* L.'da glukozilseramid (m/z: 728.4687, M+HCOOK[1+]) belirlenmiştir ve glukozilseramid miktarının beklendiği gibi meyvelerde tohumlardan daha yüksek olduğu görülmüştür (9.83 x). Bu bitkide glukozilseramid varlığı, yara iyileştirme özellikleriyle ilişkilendirilebilir.

1991 yılında yayınlanan bir çalışmada Cucurbitaceae familyasına ait bitkilerin sıtma önleyici aktivitelerinden bahsedilmiştir. Bu çalışmada, *Cucurbita maxima* ve *Momordica charantia* L.'dan elde edilen etanolik ekstraktlar, 4-d baskılayıcı test (288) ile antimalaryal aktivite açısından test edilmiştir. Cucurbitaceae familyasının sıtma önleyici aktivitesini değerlendirmek için bildirilen ilk çalışmalardan birinin üzerinden 30 yıldan fazla zaman geçmesine rağmen, sıtma önleyici özellikler için rapor edilen birçok çalışma, esas olarak kukurbitasinler ile ilişkilendirilmiştir (289-291).

Yara iyileşmesinde glutamik asit kullanımı daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (292, 293). 2012 yılında yayınlanan bir çalışmada, KN tohumlarından izole edilen polipeptit-k'nin amino asit bileşiminin glutamik asit içerdiği bildirilmiştir (294). Du ve arkadaşları tarafından yayınlanan yakın tarihli bir çalışmada *Momordica dioica*'dan siklik ve asiklik tripsin inhibitörlerinin karakterizasyonu



yapılmıştır ve piroglutamik asitten bahsedilmiştir (295). Bu önceki bulgular, KN'nın hem tohumlarının hem de meyvelerinin piroglutamik asit (m/z: 129.0420, M[1+]) içerdiği yönündeki bulgularımızı desteklemektedir, ancak bileşiğin miktarının, deneysel sonuçlarımıza göre tohumlarda meyvelere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. *Momordica charantia* L.'nin hem tohumlarının hem de meyvelerinin antidiyabetik tedavide kullanıldığı bildirilen salsolinol, kumarin, triptamin, presqualen difosfat, triptamin içerdiği söylenebilir. Bu antidiyabetik fitokimyasalların miktarları, tohumlarda meyvelere göre daha yüksekti. Öte yandan yara iyileştirici özelliği olan bileşiklerin (glukosilseramid, LysoPC(O-18:0)) miktarları meyvelerde tohumlara göre daha yüksek bulunmuştur. KN meyvelerinin yara iyileşmesinde potansiyel olarak aktif olduğunu, ancak tohumlarının antidiyabetik tedavide kullanıldığını gösterebilir. İleriki çalışmalarda hedefe yönelik analizler yapılmalıdır. Metabolomik analiz sonucu bulunan metabolit listesi alfabetik olarak **EK-2**'de verilmiştir.

Yara iyileştirme özelliği bulunan ürünlerin bir kısmı cilt kanserinde tedavi amaçlı ya da semptomların giderilmesi amacıyla kullanılabilir (Bkz. Bölüm 2.21.4.). Bu amaçla, *Momordica charantia* L. bitkisinde meyvenin mi yoksa tohumun mu cilt kanserinde etkin olduğu araştırılmak istenmiştir. Bu amaçla; Gereç ve Yöntem bölümünün 3.2 ve 3.3.1. başlıkları altında anlatıldığı üzere hücre kültürü çalışmaları yapılmıştır. Meyve ve tohum ekstraktları, 48 saat ve 72 saat melanom hücre hatlarında inkübe edilmiştir. Akut ve kronik etkiyi karşılaştırmak için de 48. ve 72. saatler uygun bulunmuştur.

24 saat, 48 saat ve 72 saat sonucunda derişime karşı hücre canlılığı (%) bulunmuştur (Bkz. Şekil 4.5., 4.6. ve 4.7.). Bu grafiklerden yola çıkarak doz seçimi IC<sub>50</sub>'ye göre yapılmıştır. Bu değer yarı maksimum inhibe edici derişimidir. IC<sub>50</sub> değeri 50.0 µg/mL seçilmiştir. Hücrelerin metabolom düzeyinde analizi, LC/Q-TOF MS yöntemi ile yapılmıştır. Analiz, C18 kolon kullanılarak ve gradient elüsyon programıyla gerçekleştirilmiştir (Bkz. Tablo 3.12.). Meyve ve tohum ekstraktlarına maruz bırakılan melanom hücre hattında, 48 saat ve 72 saat süreyle miktarı değişen metabolitler incelenmiştir. Bulunan metabolit listesi alfabetik olarak **EK-3**'de verilmiştir.

*MSDial yazılımı ile yapılan hücre metabolomiğinin veri analizinin sonucunda;*

*Meyve-Kontrol (48 saat)*

48 saat için kontrol ve meyve temel pik kromatogramlarının neredeyse aynı olduğu görülmüştür (Bkz. Şekil 4.8., 4.9.). Fakat 11. dakikadan sonra kromatogram profillerinde değişiklik gözlenmiştir. Bu değişiklik, 4077 adet pikin tespitine rağmen veri analizleri sonucu farklılaşan metabolit sayısının 14 metabolite düşmesi ile açıklanabilir. 14 metabolit ise 9 adet pikle eşleşmiştir (Bkz. Tablo 4.3.).

1 numaralı pik L-karnitin (m/z: 162.1126, M+H[1+]) ve malonil-karnitin (m/z: 162.1126, M[1+]) ile eşleşmiştir. Karnitin biyosentezi, melanomlarda inhibe olmaktadır (296). L-Karnitin ve Malonil-karnitin miktarları kontrol grubuna göre azalmıştır (Bkz. Tablo 4.3.) Bu durum tedavi süreci veya hücre çoğalmasının önlenmesi ile ilgili etkiyle ilişkilendirilmiştir.

2 numaralı pik dopamin (m/z: 176.0685, M+Na[1+]) ile eşleşmiştir. Melanin üreten biyosentetik yol birçok melanomda mevcuttur. Bu yoldaki ara ürünlerin (L-dopa, dopamin ve bunların analogları) farmakolojik seviyelerinin, bazı doku kültürü melanom hücre hatlarında makromoleküler sentezi inhibe edebileceğini ve tümör taşıyan farelerde hayatta kalma süresini uzatabileceği öne sürülmüştür (297). Dopamin miktarları kontrol grubuna göre artmıştır (Bkz. Tablo 4.3.). Bu artış, ilgili çalışmada da belirtildiği üzere hücre çoğalmasına negatif yönde bir etki sağlayabilecektir.

3 numaralı pik L-arjinin (m/z: 197.1010, M+Na[1+]) ve D-arjinin (m/z: 197.1010, M+Na[1+]) ile eşleşmiştir. Melanom hücreleri sıklıkla arjinin sentezi için gerekli bir enzim olan arjiniinosüksinat sentetazdan yoksundur ve sonuç olarak eksojen arjinine bağımlı hale gelirler (298). Malign melanom tedavisi için arjinin yoksunluğunun potansiyel klinik uygulamaları araştırılmış ve uygulanabilir ve etkili olduğu kanıtlanmıştır. Arjiniinosüksinat sentaz 1 normal dokularda yüksek oranda ifade edilir. Malign melanom tamamen eksik olduğu yapılan bir çalışmayla görülmüştür (299). Ancak L-arjinin ve D-arjinin miktarları kontrol grubuna göre artmıştır (Bkz. Tablo 4.3.). Bu artış, hücrenin kanser hücresi formundan sağlıklı hücre yapısına dönüşüyle ilgili moleküler mekanizmalarla ilişkilendirilebilir.

5 numaralı pik N-metiltriptamin (m/z: 233.0824, M+NaCl[1+]) ile eşleşmiştir. SK-Mel-147 melanom hücrelerinde LC-MS/MS analizi yapılmış olup triptamin metabolitlerine rastlanmıştır (300). N-Metiltriptamin miktarının kontrol grubuna arttığı görülmüştür (Bkz. Tablo 4.3.). Dolayısıyla ekstraktın etkisiyle birlikte kanser hücrelerinde görülen bu metabolit grubu için baskılanma sağlanabilmiştir.

6 ve 7 numaralı pikler CE(12:0) (m/z: 335.2836, M+H+Na[2+]) , 3-beta-hidroksi-4-beta-metil-5-alfa-kolest-7-en-4-alfa-karboksilat (m/z: 409.3462, M-H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>+H[1+]), latosterol (m/z: 409.3462, M+Na[1+]), 5a-Kolest-8-en-3b-ol (m/z: 409.3462, M+Na[1+]) ve kolesterol (m/z: 409.3462, M+Na[1+]) ile eşleşmiştir. Kolesterol metabolizması, yüksek seviyelerde metabolik aktivite, membran bütünlüğü ve sinyal iletimini sürdürmek için gerekli yüksek seviyeler ile kanser hücresinin hayatta kalması için önemlidir. Hücrel kolesterol eksikliği, melanom hücrelerinin hayatta kalması için gerekli olan onkojenik AKT sinyal yolunun inhibisyonuna yol açmaktadır (301). CE(12:0), 3-beta-hidroksi-4-beta-metil-5-alfa-kolest-7-en-4-alfa-karboksilat, latosterol, 5a-Kolest-8-en-3b-ol ve kolesterol miktarının kontrole göre arttığı görülmüştür (Bkz. Tablo 4.3.). **EK-3**'de görüldüğü gibi CE(12:0) (Kolesteril laurik asit) bir kolesterol esteridir, 3-beta-hidroksi-4-beta-metil-5-alfa-kolest-7-en-4-alfa-karboksilat bir steroid biyosentez ara maddesidir, 5a-Kolest-8-en-3b-ol kolesterol sentezinin ara maddesidir, latosterol sterol yapılıdır, 5a-kolest-8-en-3b-ol kolesterol sentezinin bir ara maddesidir. Bu durum, metanol ekstresindeki bileşenlerin steroid hormon mekanizması üzerine etkili olduğunu ve bu durumun kanser hücrelerinde immun sistemin aktivasyonu ile sonuçlandığını ortaya koymaktadır.

9 numaralı pik LysoPC(O-18:0) (m/z: 568.3492, M+NaCl[1+]) ile eşleşmiştir. Lizofosfatidilkolin (LPC), insan plazmasında bol miktarda bulunan bir bileşendir. Malign kanser hastalıkları olan hastalar için lizofosfatidilkolin plazma seviyeleri azdır ve bu nedenle lizofosfatidilkolin, kanser için metabolik bir biyobelirteç olarak incelenmiştir (302). Lizofosfatidilkolin yapılı LysoPC(O-18:0) miktarının kontrole göre arttığı görülmüştür (Bkz. Tablo 4.3.). Bu durum, çoğalmayı önleyici etki ile paralel bir sonuç olarak göze çarpmaktadır.

*Tohum-Kontrol (48 saat)*

48 saat için kontrol ve tohum temel pik kromatogramları neredeyse aynı olduğu görülmüştür (Bkz. Şekil 4.8., 4.11.). Fakat 11. dakikadan sonra kromatogram profillerinde değişiklik gözlenmiştir. Bu değişiklik, 4077 adet pikin pikin tespitine rağmen veri analizleri sonucu farklılaşan metabolit sayısının 5 metabolite düşmesi ile açıklanabilir. 5 metabolit ise 1 adet pikle eşleşmiştir (Bkz. Tablo 4.4.).

1 numaralı pik serotonin (m/z: 177.1024, M+H[1+]), L-triptofan (m/z: 177.1024, M-CO+H[1+]), D-triptofan(m/z: 177.1024, M-CO+H[1+]), 5-hidroksi-L-triptofan (m/z: 177.1024, M-CO<sub>2</sub>+H[1+])ve 6-Hidroksimelatonin (m/z: 177.1024, M-C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>+H[1+]) ile eşleşmiştir. Melanom hücreleri, katekolaminleri (serotonin (5-HT), dopamin) sentezleme yeteneğine sahiptir (303). Serotonin miktarının kontrole göre arttığı görülmüştür (Bkz. Tablo 4.4.).

Azalmış serum triptofan derişimlerinin malign melanom hastalarında kötü prognozu öngörölmüştür. Azalmış serum triptofan derişimleri melanom hastalarında belirteçler olarak kullanılabilir (304). L-triptofan, D-triptofan, 5-hidroksi-L-triptofan miktarlarının kontrole göre arttığı görölmüştür (Bkz. Tablo 4.4.).

Melatonin, insan melanom hücrelerinin proliferasyonunu, hücre döngüsünün durdurulması ve hücre iskeletinin yeniden şekillenmesi yoluyla istilasını engeller (305). Kontrole kıyasla melatonin miktarının arttığı görölmüştür (Bkz. Tablo 4.4.). Bu tez çalışması kapsamında KN'nın "antikanser aktivitesi" ile ilgili en çarpıcı sonuçlardan birisi olarak değerlendirilebilecek olan pik eşleşmesi, KN tohumu metanol ekstrakstının moleküler düzeyde birincil seviye akut etkisini gözler önüne sermektedir.

*Meyve-Kontrol ve Tohum-Kontrol Ortak (72 saat)*

Metiyonin enkefalinin (MENK) B16 melanom hücreleri için *in vivo* ve *in vitro* sitotoksitesisi araştırılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda, MENK'in B16 hücrelerinin proliferasyonunu düzenlediği, G0/G1 fazında hücre döngüsünün durmasına ve S ve G2/M fazlarında hücre yüzdesinde azalmaya neden olduğu sonucuna varılmıştır (306). Hem meyve hem tohumda kontrole göre metiyonin miktarı artmıştır (Bkz. Tablo 4.7.). Bu dolaylı etki sayesinde miktarı artan metiyonin üzerinden oluşacak etki incelemeye değerdir ve yoruma açıktır.

Deneysel melanom modellerine karşı önemli antitümör aktiviteye sahip çeşitli analoglar hazırlanmıştır ve bunlar arasında levodopa, dopamin ve nörotoksik olmayan analog 3,4-dihidroksibenzilamin bulunmaktadır. Dopaminin, tedavi edilen 4 hastada tümörün önemli bir biyokimyasal inhibisyonuna neden olduğu gösterilmiştir (307). Dopamin miktarının tohumda kontrole kıyasla arttığı ve meyvede kontrole kıyasla azaldığı görülmüştür (Bkz. Tablo 4.7.). Bu sonuç değerlendirmeye açıktır ve yorumlanamamıştır.

Sistin/sistein döngüsü antioksidan sistemlerdir ve baskılanması melanom hücreleri için öldürücüdür (308). L-sistin miktarının kontrole göre azaldığı görülmüştür, tohum/kontrol'de meyve/kontrole göre daha fazla azalma olmuştur (Bkz. Tablo 4.7.).

Çeşitli tokoferol formlarının (E vitamini) kültürdeki fare melanom (B-16) ve fare fibroblast (L-hücreleri) hücrelerinin büyümesi ve farklılaşması üzerindeki etkileri incelenmiştir. Alfa-tokoferol asit süksinat, melanom hücrelerinde morfolojik değişikliklere ve büyüme inhibisyonuna neden olmuştur (309). Alfa-tokoferol miktarının kontrole göre azaldığı görülmüştür, tohum/kontrol'de meyve/kontrole göre daha fazla azalma olmuştur (Bkz. Tablo 4.7.). Vitamin E miktarı üzerinden çoğalmayı önleyici etkiyi değerlendirmek hatalı sonuçlara sebebiyet verebilir.

Bitki kaynaklı steroller fitosterollerdir. Bunların arasındaki sitosterol kanser önleyici aktivite sergilemektedir (310). Sterol yapılı avenasterol ve delta7-avenasterol miktarlarının kontrole azaldığı görülmüştür, tohum/kontrol'de meyve/kontrole göre daha fazla azalma olmuştur (Bkz. Tablo 4.7.). Sterolleri kanser ile ilişkilendirmektense hücreye ait immun mekanizmanın baskılanması ile ilişkilendirmek daha doğru bir yaklaşım olabilir.

Yapılan bir çalışmada sekonder metabolitlerinden bir tür ergosterol olan 4,4-dimetil-5a-ergosta-8,24(28)-dien-3p-ol(1) (LH-1) ekstrakte edilmiştir ve melanoma karşı biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Ergosterollerin spesifik biyolojik aktiviteleri ve kanser tedavisinde etkileri vardır. LH-1'in proliferasyonu ve göçü engelleyebileceği, apoptozu indükleyebileceği görülmüştür. Mitokondri apoptotik yolu ve melanom hücrelerinde obscurin gen ekspresyonunu yukarı regüle eder (311). **EK-3**'de belirtildiği gibi ergosterol olan 24-metilenlofenol miktarlarının kontrole göre azaldığı görülmüştür ve tohum/kontrol'de meyve/kontrole göre daha fazla

azalma olmuştur (Bkz. Tablo 4.7.). Yine aynı şekilde bu etkinin steroid hormon metabolizmasında ve dolaylı olarak immün sistem üzerinde değişim ile ilişkilendirilmesi gerekmektedir.

Düşük dereceli glial tümörü olan hastalarda yüksek behenik asit seviyeleri, doku bütünlüğünün ve doku direncinin kalıcılığını gösterdiği için önemlidir. Behenik asit seviyeleri glial tümörlerde prognostik bir faktör olabilir (312). Behenik asit miktarlarının kontrole göre azaldığı görülmüştür ve tohum/kontrolde ve meyve/kontrolde göre neredeyse eşit miktarda azalma olmuştur (Bkz. Tablo 4.7.).

K vitamininin melanom hücreleri üzerindeki etkilerini araştıran çok az çalışma vardır. K3 ve K5 vitaminleri dahil olmak üzere çeşitli K vitamini formları, melanom hücrelerinin proliferasyonunu inhibe eder ve apoptozu artırır. *in vivo* olarak, K vitamini analogu menadion, melanom ksenograft tümörlerinin büyümesini inhibe etmektedir (312). K1 Vitamini miktarı meyve/kontrol ve tohum/kontrolde göre miktarlarının arttığını görülmüştür (Bkz. Tablo 4.7.).

Skualen, cilt yüzeyi lipidlerinin ana bileşenlerinden (yaklaşık %13) biri olan, yapısal olarak bir triterpen bileşiğidir. Deneysel çalışmalar, skualenin kimyasal olarak indüklenen deri, kolon ve akciğer tümör oluşumunu etkili bir şekilde inhibe edebildiğini göstermiştir (313). Skualen miktarı kontrole göre artmıştır (Bkz. Tablo 4.7.). Meyve/kontrol'ün, tohum/kontrolde kıyasla daha fazla miktarlarının arttığını görülmüştür.

#### *Meyve-kontrol (72 saat)*

72 saat için kontrol ve meyve temel pik kromatogramlarının neredeyse aynı olduğu görülmüştür (Bkz. Şekil 4.15., 4.16.). Fakat 11. dakikadan sonra kromatogram profillerinde değişiklik gözlenmiştir. Bu değişiklik, 5484 adet pikin tespitine rağmen veri analizleri sonucu farklılaşan metabolit sayısının 38 metabolite düşmesi ile açıklanabilir. 38 metabolit ise 14 adet pikle eşleşmiştir (Bkz. Tablo 4.5.).

6 numaralı pik 3-Ketosfinganin (m/z: 300.2890, M+H[1+]), Sfingosin (m/z: 300.2890, M+H[1+]) ve Fitosfingosin (m/z: 300.2890, M-H<sub>2</sub>O+H[1+]) ile eşleşmiştir. 3-Ketosfinganin, dihidrosfingolipidlerin birikmesini tetikler ve kanser hücrelerinde otofajiye neden olur (314). Kontrole kıyasla miktarlarının arttığını görülmüştür (Bkz. Tablo 4.5.). İlerlemiş melanomlarda sfingosin kinaz-1'in (SPHK1) artan aktivitesinden kaynaklanan yüksek sfingosin-1-fosfat (S-1-P) düzeylerinin

ortaya çıktığını göstermektedir (315). Sfingosin ve Fitosfingosin miktarlarının kontrole kıyasla arttığı görülmüştür (Bkz. Tablo 4.5.). Bu durum “kanseri iyileştirici aktivite” üzerinden düşünüldüğünde beklenmeyen bir sonuçtur.

7 numaralı pik Prostaglandin D2 (m/z: 325.2380, M-CO+H[1+]), 20-Hidroksi-Lökotrien B4 (m/z: 325.2380, M-CO+H[1+]), Lipoksin B4 (m/z: 325.2380, M-CO+H[1+]), Lipoksin A4 (m/z: 325.2380, M-CO+H[1+]), Prostaglandin E2 (m/z: 325.2380, M-CO+H[1+]), 6-Ketoprotaglandin E1(m/z: 325.2380, M-CO<sub>2</sub>+H[1+]), (13E)-11a-hidroksi-9,15-dioksoprost-13-enoik asit (m/z: 325.2380, M-CO+H[1+]), 13,14-Dihidro-15-keto-PGE2(m/z: 325.2380, M-CO+H[1+]), Prostaglandin I2 (m/z: 325.2380, M-CO+H[1+]), Prostaglandin G2(m/z: 325.2380, M-CO<sub>2</sub>+H[1+]), Tromboksan B2 (m/z: 325.2380, M-HCOOH+H[1+]), Tromboksan A2 (m/z: 325.2380, M-CO+H[1+]), Prostaglandin H2 (m/z: 325.2380, M-CO+H[1+]) ile eşleşmiştir. Bu metabolitler **EK-3**'de belirtildiği eikozonoid yapıdadırlar. Prostaglandinler ve lökotrienler dahil olmak üzere eikozanoidler, iltihaplanma ve kanser gibi çeşitli patolojik süreçlerde yer alan biyolojik olarak aktif lipidlerdir (316). Bu metabolitlerin miktarlarının kontrole kıyasla arttığı görülmüştür (Bkz. Tablo 4.5.). Bu artış zaten halihazırda hem kontrol hem de ekstraktlar ile işlem görmüş gruplarla çalışıldığı dikkate alınırsa dışarıdan müdahaleye karşı bir immun tepki olarak düşünülebilir.

12 numaralı pik (S)-2,3-Epoksiskualen (m/z: 427.3926, M+H[1+]) ile eşleşmiştir. Skualen cilt yüzeyi lipidlerinin ana bileşenlerinden (yaklaşık %13) biri olan, yapısal olarak bir triterpen bileşigidir. Deneysel çalışmalar, skualenin kimyasal olarak indüklenen deri, kolon ve akciğer tümör oluşumunu etkili bir de inhibe edebildiğini göstermiştir (313). (S)-2,3-Epoksiskualen miktarının kontrole kıyasla daha fazla miktarlarının arttığını görülmüştür (Bkz. Tablo 4.5.). Doku bütünlüğüne giden sürecin takibi açısından incelenmeye değer bir sonuç olarak görülmektedir.

#### *Tohum-kontrol (72 saat)*

72 saat için kontrol ve tohum temel pik kromatogramlarının neredeyse aynı olduğu görülmüştür (Bkz. Şekil 4.15., 4.18.). Fakat 11. dakikadan sonra kromatogram profillerinde değişiklik gözlenmiştir. Bu değişiklik, 5484 adet pikin tespitine rağmen veri analizleri sonucu farklılaşan metabolit sayısının 38 metabolite düşmesi ile açıklanabilir. 25 metabolit ise 13 adet pikle eşleşmiştir (Bkz. Tablo 4.6.).

3 numaralı pik ürokanik asit (m/z: 207.0368, M+HCOONa[1+]) ile eşleşmiştir. Derinin endojen bir bileşiği olan cis-ürokanik asit (cis-UCA) , protonları hücrelere taşıyarak sitozolü asitleştirebilir. cis-UCA, zayıf asidik hücre dışı pH'da canlı insan melanomu, servikal karsinom ve fibrosarkom hücrelerinin sayısını doza bağlı olarak azalttığı görülmüştür (317). Ürokanik asidin, kontrole kıyasla miktarlarının azaldığı görülmüştür (Bkz. Tablo 4.6.).

6 numaralı pik SM(D18:1/18:0) (m/z: 244.8751, M+3H[3+]) ile eşleşmiştir. Sfingolipid (SL) metabolizma değişiklikleri, kötü prognozlu bir cilt kanseri olan melanom da dahil olmak üzere kanserde sıklıkla rapor edilmiştir. Normal hücrelerde, de novo sentezlenen seramid, sırasıyla SGMS1 ve SGMS2 genleri tarafından kodlanan sfingomyelin sentaz 1 (SMS1) ve daha az da olsa SMS2 tarafından en çok bulunan SL olan sfingomyelin'e (SM) dönüştürülür. SMS1, insan melanom biyopsilerinin çoğunda düşük seviyelerde ifade edilmiştir. Ayrıca, düşük SMS1 ekspresyonu, metastatik melanom hastalarında daha kötü bir prognoz ile ilişkilendirilmiştir (318). SM(D18:1/18:0) miktarının kontrole kıyasla azaldığı görülmüştür (Bkz. Tablo 4.6.). Bu durum, çoğalmayı önleyici etkiyi destekler niteliktedir.



## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bitki metabolom veritabanları, metabolomik araştırma için çok sınırlıdır. Bu sınırlılık, bitki metabolomik çalışmalarının önündeki en büyük engellerden birisidir. Bitkiye özgü ayrıntılara sahip veritabanları olsaydı daha fazla metabolit tespit edilebilirdi. Bu çalışmada söz konusu Cucurbitaceae bitki familyasının KEGG veri tabanlarında kayıtlı herhangi bir kütüphanesi bulunmamaktadır. *Oryza sativa japonica* (Japon pirinci) ve *Arabidopsis thaliana* (thale teresi) için veri setleri ve dolayısıyla bu bitkilere ait KEGG kodları Metaboanalyst 5.0'da bulunmaktadır. Öte yandan, HMDB'de oldukça fazla metabolit vardır, ancak bitki metabolitleri için sınırlıdır. Klinik uygulamalarda kendini kanıtlamış olan bu metodoloji, veri tabanlarının yetersiz olması nedeniyle bitki ekstraktlarına uygulandığında aynı ölçüde işlevsel bir şekilde çalışmamaktadır. Çalışmanın zayıf noktası bu olsa da bulunan metabolitler HMDB'de tek tek arandıktan sonra önemli olanlar ayrıştırılarak detaylı bir literatür taraması yapılmış ve bu eksiklik kapatılmaya çalışılmıştır. Çalışmanın gücü, ilk kez *Momordica* cinsi için tohum ve bitki metabolitlerinin hedeflenmemiş olarak karşılaştırılmasıdır. Sonuç olarak 8 metabolit [(R)-Salsolinol, Pantetein, Kumarin, Triptamin, LysoPC(O-18:0), Glukosilseramid, Preskualen difosfat, Piroglutamik asit)] bulunmuş ve literatür araştırması ile doğrulanmıştır.

Melanom tehlikeli bir cilt kanseridir ve cilt kanserlerinin en nadir görülen türüdür. Bu nedenle tedavisi de önem taşımaktadır. Bitkisel içerikli topikal krem/merhem/jel yara bakımında sıklıkla kullanılmaktadır. Melanom tedavisinde kullanılabilecek olan topikal alternatif sayısı azdır ve *Momordica charantia* L. bitki formülasyonu topikal uygulama için hazırlanırsa bu amaçla kullanılabilir hale gelebilir.

Hedeflenmiş çalışma yapmak teorik olarak kolay görünse de pratikte tartışmaya açıktır; çünkü triterpen glikozitler ve bilinen bazı metabolitlere ait standartların temini mümkün olsa da beklenen etkinin triterpen glikozitler üzerinden gerçekleştiğine ait bir kanıt yoktur ve triterpen glikozit (örneğin kukurbitasin) miktarları (meyve ve tohum için) analiz edildiğinde elde edilecek sonuçların doğrudan çoğalmayı önleyici etki ile ilişkilendirilmesi çok doğru bir yaklaşım olmayabilir. Hücre kültürü çalışmaları için hedeflenmiş analizlerle doğrulanmaya ihtiyaç duymaktadır. Tez kapsamında hedeflenmemiş metabolomik çalışma

yaptığımız için bir sonraki çalışmamızda hedeflenmiş metabolomik analizlere gidilecektir.

Veri analizi sonuçlarına bakacak olursak 48 saat tohum inkübasyonu sonucu alınan biyobelirteçler önem taşımaktadır.

Sinerjik etkinin de sonucu olarak miktarının düşmesini beklediğimiz bazı bileşenlerin miktarı artmıştır. Ancak *in vivo* araştırma yapılmadan kesin bir şey söylememiz de mümkün değildir.

*Momordica charantia* L. doğrudan bir sitotoksik bir bileşen değildir ve yara bakımı tedavisinde de önemlidir. Bu nedenle sadece sitotoksik olsaydı yara iyileşmesinde istenen sonuçlar alınamayabilirdi.

Cilt kanseri tedavisinde literatür araştırmalarına göre tek bir etkin maddenin etkili olduğu görülmüştür.

Bütün bu literatür taraması ve elde edilen sonuçlar ışığında önerilebilecek yegane sonuç; KN'na ait çalışmaların metabolomik yaklaşımlar ile desteklenerek artması ve de melanom tedavisi ve yara bakım uygulamalarında alınan sonuçların moleküler düzeyde desteklenmesi ile cilt kanseri için ve yara bakım için uluslararası standartlarda eşsiz bir formülasyonun eldesinin önünün açılacağıdır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Han Mİ, Bulut G. The folk-medicinal plants of Kadisehri (Yozgat-Turkey). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 2015;84(2):237-248.
2. Lewis WH, Elvin-Lewis MP. Medicinal plants as sources of new therapeutics. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 1995;85(1):16-24
3. Jamshidi-Kia F, Lorigooini Z, Amini-Khoei H. Medicinal plants: Past history and future perspective. *Journal of Herbmed Pharmacology*. 2017;7(1):1-7.
4. Hamilton AC. Medicinal plants, conservation and livelihoods. *Biodiversity & Conservation*. 2004;13:1477-1517.
5. Bozyel ME, Merdamert-Bozyel E, Benek A, Turu D, Yakan MA, Canlı K. Ethnomedicinal uses of Araceae taxa in Turkish traditional medicine. *International Journal of Academic and Applied Research*, 2020;4(5):78-87.
6. Akalın E, Gürdal B, Olcay B. General overview on the conservation of medicinal plants in Turkey. *Turkish Journal of Biodiversity*. 2020;3(2)86-94.
7. Miranda JJM. Medicinal plants and their traditional uses in different locations. Bhat RA, Hakeem HR, Dervaş MA, editors. *Phytomedicine*. Elsevier;2021.
8. Garg AK, Faheem M, Singh S. Role of medicinal plant in human health disease. *Asian Journal of Plant Science & Research*. 2021;11(1):19-21.
9. Tribess B, Pintarelli GM, Bini LA, Camargo A, Funez LA, Luís de Gasper A, Zeni ALB, ve ark. Ethnobotanical study of plants used for therapeutic purposes in the Atlantic Forest region, Southern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015;164:136-146.
10. Vailati-Riboni M, Palombo V, Loor JJ. What are omics sciences? Amejat BN, editors. *Periparturient diseases of dairy cows: a systems biology approach*. Springer Cham; 2017.
11. Wanichthanarak K, Fahrman JF, Grapov D. Genomic, proteomic, and metabolomic data integration strategies. *Biomarker insights*, 2015;10:1-5.
12. Ulrich-Merzenich G, Zeitler H, Jobst D, Panek D, Vetter H, Wagner H. Application of the “-Omic-” technologies in phytomedicine. *Phytomedicine*. 2007;14(1):70-82
13. Horgan RP, Kenny LC. ‘Omic’ technologies: genomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics. *The Obstetrician & Gynaecologist*., 2011;13(3):189-195.

14. Xie C, Zhong D, Yu K, Chen X. Recent advances in metabolite identification and quantitative bioanalysis by LC–Q-TOF MS. *Bioanalysis*. 2012;4(8):937-959.
15. Gupta M, Sharma S, Gautam A, Bhadauria R. *Momordica charantia* Linn.(Karela): Nature's silent healer. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2011;11(1):32-37.
16. Singh J, Cumming E, Manoharan G, Kalasz H. Suppl 2: Medicinal chemistry of the anti-diabetic effects of *Momordica charantia*: active constituents and modes of actions. *The open medicinal chemistry journal*. 2011;5:70.
17. İlhan M, Bolat İE, Süntar İ, Köklü HK, Çankal DU, Keleş H, ve ark. Topical application of olive oil macerate of *Momordica charantia* L. promotes healing of excisional and incisional wounds in rat buccal mucosa. *Archives of oral biology*. 2015;60(12):1708-1713.
18. Akyüz E, Türkoğlu S, Başkan KS, Tütem E, Apak MR. Comparison of antioxidant capacities and antioxidant components of commercial bitter melon (*Momordica charantia* L.) products. *Turkish journal of chemistry*. 2020;44(6):1663-1673.
19. Tan SP, Kha TC, Park SE, Roach PD. Bitter melon (*Momordica charantia* L.) bioactive composition and health benefits: A review. *Food Reviews International*. 2016;32(2):181-202.
20. Hulin A, Wavelet M, Desbordes JM, Intoxication aigue par *Momordica charantia* (sorrossi). A propos de deux cas. *Sem Hop*. 1988;64:33-35.
21. Marles RJ, Farnsworth NR. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*. 1995;2(2):137-189.
22. Enwerem N, Okunji PO, Oyonumo N. *Momordica Charantia* (Bitter Melon): Safety and Efficacy During Pregnancy and Lactation. *International Journal of Studies in Nursing*. 2018;3(2):140.
23. Raman A, Lau C. Anti-diabetic properties and phytochemistry of *Momordica charantia* L.(Cucurbitaceae). *Phytomedicine*. 1996;2(4):349-362.
24. Tennekoon KH, Jeevathayaparan S, Angunawala P, Karunanayake EH, Jayasinghe KS. Effect of *Momordica charantia* on key hepatic enzymes. *Journal of ethnopharmacology*. 1994;44(2):93-97.
25. Jia S, Shen M, Zhang F, Xie J. Recent advances in *Momordica charantia*: functional components and biological activities. *International journal of molecular sciences*. 2017;18(12):2555.

26. Yan JK, Wu LX, Qiao ZR, Cai WD, Ma H. Effect of different drying methods on the product quality and bioactive polysaccharides of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) slices. *Food chemistry*. 2019;271:588-596.
27. He WJ, Chan LY, Clark RJ, Tang J, Zeng GZ, Franco OL, ve ark. Novel inhibitor cystine knot peptides from *Momordica charantia*. *PLoS One*. 2013;8(10):e75334.
28. Saeed F, Afzaal M, Niaz B, Arshad MU. Bitter melon (*Momordica charantia*): A natural healthy vegetable. *International Journal of Food Properties*. 2018;21(1):1270-1290.
29. Chen JC, Lau CBS, Chan JYW, Fung KP, Leung PC, Liu JQ, ve ark. The antigluconeogenic activity of cucurbitacins from *Momordica charantia*. *Planta medica*. 2015;81(04):327-332.
30. Dandawate PR, Subramaniam D, Radhye SB, Anant S. Bitter melon: a panacea for inflammation and cancer. *Chinese journal of natural medicines*. 2016;14(2):81-100.
31. Kumar SR, Ashish J, Satish N. *Momordica charantia* Linn: A mini review. *International Journal of Biomedical Research*, 2011;2(11):579-587.
32. Mala A, Tulika T. Therapeutic efficacy of *Centella asiatica* (L.) and *Momordica charantia*: As traditional medicinal plant. *J Plant Sci*. 2015;3(1):1-9.
33. Kumar DS, Sharathnath KV, Yogeswaran P, Harani A, Sudhakar K, Sudha P, ve ark. A medicinal potency of *Momordica charantia*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2010;1(2):95-100.
34. Chekka SV, Mantipelly NK. *Momordica charantia*: A natural medicinal plant. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*. 2020;12(2):129-135.
35. Wang S, Li Z, Yang G, Ho CT, Li S. *Momordica charantia*: a popular health-promoting vegetable with multifunctionality. *Food & Function*. 2017;8(5):1749-1762.
36. Anilakumar KR, Kumar GP, Ilaiyaraja N. Nutritional, pharmacological and medicinal properties of *Momordica charantia*. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*. 2015;4(1):75-83.
37. Sur S, Ray RB. Bitter melon (*Momordica charantia*), a nutraceutical approach for cancer prevention and therapy. *Cancers*. 2020;12(8):2064.
38. Grover J, Yadav S. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 2004;93(1):123-132.

39. Bortolotti M, Mercatelli D, Polito L, *Momordica charantia*, a nutraceutical approach for inflammatory related diseases. *Frontiers in Pharmacology*. 2019;10:486.
40. Zhou L, Wang J, Wang K, Xu J, Zhao J, Shan T, ve ark. Secondary metabolites with antinematodal activity from higher plants. *Studies in Natural Products Chemistry*. 2012;37:67-114.
41. Izawa K, Amino Y, Kohmura M, Ueda Y, Kuroda M. 4.16-Human–Environment interactions–taste. *Comprehensive Natural Products II*, 2010;4:31-671.
42. Kaushik U, Aeri V, Mir SR. Cucurbitacins—an insight into medicinal leads from nature. *Pharmacognosy Reviews*. 2015;9(17):12.
43. Gry J. Cucurbitacins in plant food. Denmark: Nordic Council of Ministers; 2006.
44. Valente LMM. Cucurbitacinas e suas principais características estruturais. *Química Nova*. 2004;27:944-948.
45. Lee DH, Iwanski GB, Thoennissen NH. Cucurbitacin: ancient compound shedding new light on cancer treatment. *The Scientific World Journal*. 2010;10:413-418.
46. Alghasham AA. Cucurbitacins—a promising target for cancer therapy. *International Journal of Health Sciences*. 2013;7(1):77.
47. Huang S, Cao B, Zhang J, Feng Y, Wang L, Chen X, ve ark. Liang Induction of ferroptosis in human nasopharyngeal cancer cells by cucurbitacin B: molecular mechanism and therapeutic potential. *Cell Death & Disease*. 2021;12(3):1-13.
48. Wang W, Zhao X, Hu H, Chen D, Gu J, Deng Y, ve ark. Galactosylated solid lipid nanoparticles with cucurbitacin B improves the liver targetability. *Drug Delivery*. 2010;17(3):114-122.
49. Ueno M, Kariya R, Sittithumcharee G, Okada S. Cucurbitacin B induces apoptosis of primary effusion lymphoma via disruption of cytoskeletal organization. *Phytomedicine*. 2021;85:153545.
50. Ujváry I. Pest control agents from natural products. Krieger R, editors. *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*. 3rd ed. Hungary: Academic Press; 2010.
51. Jing S, Zou H, Wu Z, Ren L, Zhang T, Zhang J, ve ark. Cucurbitacins: Bioactivities and synergistic effect with small-molecule drugs. *Journal of Functional Foods*. 2020;72:104042

52. Ding T, Zhang Y, Chen A, Tang Y, Liu M, Wang X. Effects of cucurbitacin E, a tetracyclic triterpene compound from cucurbitaceae, on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of warfarin in rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 2015;116(5):385-389.
53. Cucurbitacin E. [Internet]. [Erişim Tarihi 9 Ağustos 2022]. Erişim adresi: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cucurbitacin-E>
54. Liu WB, Wang HL, Chen L, Tang B, Ke G, Wang S, ve ark. Cucurbitacin E inhibits cellular proliferation and induces apoptosis in melanoma by suppressing HSDL2 expression. *Chinese Medicine*. 2022;17(1):1-11
55. Chanda J, Biswas S, Kar A, Mukherjee PK. Determination of cucurbitacin E in some selected herbs of ayurvedic importance through RP-HPLC. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. 2020;11(3):287-293.
56. Kole C, Matsumura H, Behera TK. The bitter gourd genome. Switzerland: Springer Cham; 2020.
57. Torre VL, Guarniz WE, Silva-Correa C, Cruzado-Razco L, Siche R. Antimicrobial activity and chemical composition of *Momordica Charantia*: A review. *Pharmacognosy Journal*. 2020;12(1):213-222.
58. Sun L, Zhang X, Dong L, Zhang C, Guo P, Wu C. The triterpenoids of the bitter gourd (*Momordica Charantia*) and their pharmacological activities: A review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2021;96:103726.
59. Wang YH, Avula B, Liu Y, Khan IA. Determination and quantitation of five cucurbitane triterpenoids in *Momordica charantia* by reversed-phase high-performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection. *Journal of Chromatographic Science*. 2008;46(2):133-136.
60. Nakamura S, Murakami T, Nakamura J, Kobayashi H, Matsuda H, Yoshikawa M. Structures of new cucurbitane-type triterpenes and glycosides, karavilagenins and karavilosides, from the dried fruit of *Momordica charantia* L. in Sri Lanka. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2006;54(11):1545-1550.
61. Proksch E, Brandner JM, Jensen JM. The skin: an indispensable barrier. *Experimental Dermatology*. 2008;17(12):1063-1072.
62. Walters KA, Roberts MS. The structure and function of skin. Walters KA, editors. *Dermatological and Transdermal Formulations*. New York; CRC Press; 2002
63. Kolarsick PA, Kolarsick MA, Goodwin C., Anatomy and physiology of the skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association*. 2011;3(4):203-213.

64. Venus M, Waterman J, McNab I, Basic physiology of the skin. *Surgery (Oxford)*. 2010;28(10):469-472.
65. Gilaberte Y, Prieto-Torres L, Pastushenko I, Juarranz Á. *Anatomy and Function of the Skin*. Hamblin MR, Avci P, Prow TW, editors. Nanoscience in Dermatology. Saint Louis: Academic Press; 2016.
66. Yousef H, Alhadj M, Sharma S. *Anatomy, Skin (Integument), Epidermis*. Treasure Island: StatPearls; 2017.
67. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *Journal of International Medical Research*. 2009;37(5):1528-1542.
68. Değim Z, Use of microparticulate systems to accelerate skin wound healing. *Journal of Drug Targeting*. 2008;16(6):437-448.
69. Strodbeck F, Physiology of wound healing. *Newborn and Infant Nursing Reviews*. 2001;1(1):43-52.
70. Buffoni F, Banchelli G, Cambi S, Ignesti G, Pirisino R, Raimondi L, ve ark. Skin wound healing: Some biochemical parameters in guinea-pig. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1993;45(9):784-790.
71. Vowden K, Vowden P. *Wound dressings: principles and practice*. *Surgery (Oxford)*. 2017;35(9):489-494.
72. Clark RA. Basics of cutaneous wound repair. *The Journal of Dermatologic Surgery And Oncology*. 1993;9(8):693-706.
73. Kumar B, Vijayakumar M, Govindarajan R, Pushpangadan P. Ethnopharmacological approaches to wound healing—exploring medicinal plants of India. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007;114(2):103-113.
74. Guo SA, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*. 2010;89(3):219-229.
75. Hiller E. Basic principles of hemostasis. Munker L, Hiller E, Glass J, Paquette R, editors. *Modern Hematology*. New Jersey: Humana Totowa; 2007.
76. Armstrong AW, Golan DE. *Pharmacology of Hemostasis and Thrombosis*. Golan DE, Tashjian AH, Armstrong EJ, Armstrong AW, editors. *Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
77. Guo B, Dong R, Liang Y, Li M. Haemostatic materials for wound healing applications. *Nature Reviews Chemistry*. 2021;5(11):773-791.



78. George Broughton I, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2006;117(7):12-34.
79. Young A, McNaught CE. The physiology of wound healing. *Surgery (Oxford)*. 2011;29(10):475-479.
80. Singh S, Young A, McNaught CE. The physiology of wound healing. *Surgery (Oxford)*. 2017;35(9):473-477.
81. Theoret C. Physiology of wound healing. Theoret C, Schum J, editors. *Equine Wound Management*. 3rd ed. New York: John Wiley & Sons; 2016.
82. Phillipson M, Kubes P. The healing power of neutrophils. *Trends in Immunology*. 2019;40(7):635-647.
83. Dovi JV, Szpaderska AM, DiPietro LA. Neutrophil function in the healing wound: adding insult to injury? *Thrombosis and Haemostasis*. 2004;92(8):275-280.
84. Rodero MP, Khosrotehrani K. Skin wound healing modulation by macrophages. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2010;3(7):643.
85. Adamson R. Role of macrophages in normal wound healing: an overview. *Journal of Wound Care*. 2009;18(8):349-351.
86. Park JE, Barbul A. Understanding the role of immune regulation in wound healing. *The American Journal of Surgery*. 2004;187(5):11-16.
87. Schäffer M, Barbul A. Lymphocyte function in wound healing and following injury. *British Journal of Surgery*. 1998;85(4):444-460.
88. Kanzler MH, Gorsulowsky DC, Swanson NA. Basic mechanisms in the healing cutaneous wound. *The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology*. 1986;12(11):1156-1164.
89. Schreml S, Szeimies RM, Prantl L, Landthaler M, Babilas P. Wound healing in the 21st century. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2010; 63(5):866-881.
90. Gonzalez ACDO, Costa TF, Andrade ZDA, Medrado ARAP. Wound healing- A literature review. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2016;91:614-620.
91. Potekaev NN, Borzykh OB, Medvedev GV, Pushkin DV, Petrova MM, Petrov AV, et al. The role of extracellular matrix in skin wound healing. *Journal of Clinical Medicine*. 2021;10(24):5947.

92. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature*. 2008;453(7193):314-321.
93. Gupta A, Kumar P. Assessment of the histological state of the healing wound. *Plastic and Aesthetic Research*. 2015;2:239-242.
94. Mayet N, Choonara YE, Kumar P, Tomar LK, Tyagi C, Du Toit LC, ve ark. A comprehensive review of advanced biopolymeric wound healing systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2014;103(8):2211-2230.
95. Percival NJ. Classification of wounds and their management. *Surgery (Oxford)*. 2002;20(5):114-117.
96. Sarabahi S, Tiwari V, Bhattacharya S. Principles and practice of wound care. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers; 2012.
97. Chhabra S, Chhabra N, Kaur A, Gupta N. Wound healing concepts in clinical practice of OMFS. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery*. 2017;16(4):403-423.
98. Korting H, Schöllmann C, White R. Management of minor acute cutaneous wounds: importance of wound healing in a moist environment. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2011;25(2):130-137.
99. Tiwari V. Burn wound: How it differs from other wounds?. *Indian Journal of Plastic Surgery*. 2012;45(2):364-373.
100. Sahin I, Eski M, Acikel C, Kapaj R, Alhan D, Isik S. The role of negative pressure wound therapy in the treatment of fourth-degree burns. Trends and new horizons. *Annals of Burns and Fire Disasters*. 2012;25(2):92.
101. Lazarus GS, Cooper DM, Knighton DR, Margolis DJ, Percoraro RE, Rodeheaver G, ve ark. Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. *Wound Repair and Rgeneration*. 1994;2(3):165-170.
102. Menke NB, Ward KR, Witten TM, Bonchev DG, Diegelmann RF. Impaired wound healing. *Clinics in Dermatology*. 2007;25(1):19-25.
103. Kumar S, Leaper DJ. Classification and management of acute wounds. *Surgery (Oxford)*. 2005;23(2):47-51.
104. Onyekwelu I, Yakkanti R, Protzer L, Pinkston CM, Tucker C, Seligson D. Surgical wound classification and surgical site infections in the orthopaedic patient. *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons. Global Research & Reviews*. 2017;1(3):1-10.

105. Russell L. The importance of wound documentation and classification. *British Journal of Nursing*. 1999;8(20):1342-1354.
106. Gray D, White R, Cooper P, Kingsley A. Understanding applied wound management. *Wounds UK*. 2005;1(1):62-68.
107. Gray D, White RJ, Cooper P. The wound healing continuum. *British Journal of Community Nursing*. 2002;7(4):15-19.
108. Enoch S, Leaper DJ. Basic science of wound healing. *Surgery (Oxford)*. 2008;26(2):31-37.
109. Turksen K. *Wound Healing: Stem Cells Repair and Restorations, Basic and Clinical Aspects*. New Jersey: John Wiley & Sons; 2018.
110. Stubblefield MD. *Cancer Rehabilitation: Principles and Practice*. New York: Springer Publishing Company; 2018.
111. Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA. The cancer genome. *Nature*. 2009;458(7239):719-724.
112. Craythorne E, Al-Niami F. Skin cancer. *Medicine*. 2017;45(7):431-434.
113. Fabbrocini G, Triassi M, Mauriello MC, Torre G, Annunziata MC, Vita VD, et al. Epidemiology of skin cancer: role of some environmental factors. *Cancers*. 2010;2(4):1980-1989.
114. Diepgen TL, Mahler V. The epidemiology of skin cancer. *British Journal of Dermatology*. 2002;146(61):1-6.
115. Griffin LL, Ali FR, Lear JT. Non-melanoma skin cancer. *Clinical Medicine*. 2016;16(1):62.
116. Berking C, Hauschild A, Kölbl O, Mast G, Gutzmer R. Basal cell carcinoma-treatments for the commonest skin cancer. *Deutsches Ärzteblatt International*. 2014;111(22):389.
117. Qadir MI. Skin cancer: Etiology and management. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;29(3):389-395.
118. Bath-Hextall F, Bong J, Perkins W, Williams H. Interventions for basal cell carcinoma of the skin: systematic review. *BMJ*. 2004;329(7468):705-710.
119. Rudolph R, Zelac DE. Squamous cell carcinoma of the skin. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2004;114(6):82-94.
120. Alam M, Ratner D. Cutaneous squamous-cell carcinoma. *New England Journal of Medicine*. 2001;344(13):975-983.

121. Kallini JR, Hamed N, Khachemoune A. Squamous cell carcinoma of the skin: epidemiology, classification, management, and novel trends. *International Journal of Dermatology*. 2015;54(2):130-140.
122. Schadendorf D, Fisher DE, Garbe C, Gershenwald JE, Grob, JJ, Halpern, A, ve ark. Melanoma. *Nature reviews Disease Primers*. 2015;1(1):1-20.
123. Miller AJ, Mihm Jr MC. Melanoma. *New England Journal of Medicine*, 2006;355(1):51-65.
124. Xu B, Rourke L, Robinson JK, Tanaka JW. Training melanoma detection in photographs using the perceptual expertise training approach. *Applied Cognitive Psychology*. 2016;30(5):750-756.
125. Palmieri G, Rozzo C, Gentilcore G, Ascierio PA. Melanoma pathophysiology and drug targets. *Future Medicine*. 2012.
126. Bishop DT, Demenais F, Goldstein AM, Bergman W, Bishop JN, Pailleters BB, ve ark. Geographical variation in the penetrance of CDKN2A mutations for melanoma. *Journal of the National Cancer Institute*. 2002;94(12):894-903.
127. Giacinti C, Giordano A. RB and cell cycle progression. *Oncogene*. 2006;25(38):5220-5227.
128. Kastan MB, Canman CE, Leonard CJ, P53, cell cycle control and apoptosis: implications for cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*. 1995;14:3-15.
129. Mishra H, Mishra PK, Ekielski A, Jaggi M, Iqbal Z, Talegaonkar S. Melanoma treatment: from conventional to nanotechnology. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2018;144:2283-2302.
130. Mukhopadhyay S, Vander Heiden MG, McCormick F. The metabolic landscape of RAS-driven cancers from biology to therapy. *Nature Cancer*. 2021;2(3):271-283.
131. Castellano E, Downward J. Role of RAS in the regulation of PI 3-kinase. *Phosphoinositide 3-kinase in Health and Disease*. 2011;1:143-169.
132. E Ersoy A, Erdoğan HK. Sık görülen deri kanserlerinin epidemiyolojisi. *ESTÜDAM Halk Sağlığı Dergisi*. 2019;4:52-60.
133. Global Cancer Observatory [Internet]. 2020 [Erişim Tarihi 24 Haziran 2023]. Erişim adresi: <https://www.iarc.who.int/>
134. Mahadevan A, Patel VL, Dagoglu N. Radiation therapy in the management of malignant melanoma. *Oncology*. 2015;29(10):743-743.

135. Bhatia S, Tykodi SS, Thompson JA. Treatment of metastatic melanoma: an overview. *Oncology (Williston Park, NY)*. 2009;23(6):488.
136. Chu E, Sartorelli A. Cancer chemotherapy. Katzung BG, editor. *Lange's Basic and Clinical Pharmacology*. 14th ed. New York: McGraw-Hill Education; 2018.
137. Davar D, Tarhini AA, Kirkwood JM. Adjuvant therapy in melanoma. *Future Medicine*. 2012.
138. Schild SE. Role of radiation therapy in the treatment of melanoma. *Expert Review of Anticancer Therapy*. 2009;9(5):583-586.
139. Testori AA, Chiellino S, van Akkooi AC. Adjuvant therapy for melanoma: past, current, and future developments. *Cancers*. 2020;12(7):1994.
140. Wada-Ohno M, Ito T, Furue M. Adjuvant therapy for melanoma. *Current Treatment Options in Oncology*. 2019;20:1-14.
141. Chakraborty R, Wieland CN, Comfere NI. Molecular targeted therapies in metastatic melanoma. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*. 2013;6:49-56.
142. Jhingran A, Meyer LA. Malignant diseases of the cervix: microinvasive and invasive carcinoma: diagnosis and management. Valea FA, editor. 8th ed. *Comprehensive Gynecology*. Elsevier; 2021.
143. oster DS, Jones RE, Ransom RC, Longaker MT, Norton JA. The evolving relationship of wound healing and tumor stroma. *JCI insight*. 2018;3(18):1-17.
144. Rennekampff HO, Hansbrough JF, Woods Jr V, Doré C, Kiessig V, Schröder JM. Role of melanoma growth stimulatory activity (MGSA/gro) on keratinocyte function in wound healing. *Archives of Dermatological Research*, 1997;289:204-212.
145. Torres P, Castro M, Reyes M, Torres VA. Histatins, wound healing, and cell migration. *Oral Diseases*. 2018;24(7):1150-1160.
146. So M, Kotake T, Matsuura K, Inui M, Kamimura A. Concise synthesis of 2-benzazepine derivatives and their biological activity. *The Journal of Organic Chemistry*. 2012;77(8):4017-4028.
147. Bhatia A, Prakash S. Topical phenytoin for wound healing. *Dermatology Online Journal*. 2004;10(1):4017-4028.
148. Bhaskar SN, Cutright DE. Healing of skin wounds with butyl cyanoacrylate. *Journal of Dental Research*. 1969;48(2):294-297.

149. Xu X, Liu H, Zhang Y, Xue E, Yu H, Hu Y. The use of 2-octyl cyanoacrylate as an adjuvant to wound closure in total knee arthroplasty. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery*. 2021;141(4):663-668.
150. Galeano M, Torre V, Deodato B, Campo GM, Colonna M, Sturiale A, ve ark. Raxofelast, a hydrophilic vitamin E-like antioxidant, stimulates wound healing in genetically diabetic mice. *Surgery*;2001:129(4):467-477.
151. Rizk M, Witte MB, Barbul A. Nitric oxide and wound healing. *World journal of Surgery*. 2004;28(3):301-306.
152. Luo J, Chen AF. Nitric oxide: a newly discovered function on wound healing. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2005;26(3):259-264.
153. Roth L, Van der Donckt C, Veseli BE, Van Dam D. De Deyn PP, Martinet W, ve ark. Nitric oxide donor molsidomine favors features of atherosclerotic plaque stability and reduces myocardial infarction in mice. *Vascular Pharmacology*. 2019;118:1-7.
154. Ganzarolli de Oliveira M. S-Nitrosothiols as platforms for topical nitric oxide delivery. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 2016;119:49-56.
155. Kabera JN, Semana E, Mussa AR, He X. Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. *J Pharm Pharmacol*. 2014;2(7):377-392.
156. Boncan DAT, Tsang SSK, Li C, Lee IHT, Lam HM, Chan TF, ve ark. Terpenes and terpenoids in plants: Interactions with environment and insects. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(19):1-19.
157. Loomis WD, Croteau R. Biochemistry of terpenoids. Stumpf PK, editor. *Lipids:Structure and Function*. Elsevier;1980.
158. Pazyar N, Yaghoobi R, Bagherani N, Kazeroun A. A review of applications of tea tree oil in dermatology. *International Journal of Dermatology*. 2013;52(7):84-790.
159. Ludwiczuk A, Skalicka-Woźniak K, Georgiev M. Terpenoids. Badal S, Delgoda R, editors. *Pharmacognosy*. Elsevier; 2017.
160. Moura-Letts G, Villegas LF, Marçalo A, Vaisberg AJ, Hammond GB. In Vivo wound-healing activity of oleanolic acid derived from the acid hydrolysis of *Anredera diffusa*. *Journal of Natural Products*. 2006;69(6):978-979.
161. Ramos YJ, Moreira D. Seasonal study of essential oil from aerial parts of *peperomia galioides kunth* (piperaceae). *Rev. Virtual Quím*. 2019;11:1540-1550.

162. Güçlü-Üstündağ Ö, Mazza G. Saponins: properties, applications and processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2007;47(3):231-258.
163. Vincken JP, Heng L, de Groot A, Gruppen H. Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*. 2007;68(3):275-297.
164. Desai SD, Desai DG, Kaur H. Saponins and their biological activities. *Pharma Times*. 2009;41(3):13-16.
165. Podolak I, Galanty A, Sobolewska D. Saponins as cytotoxic agents: a review. *Phytochemistry Reviews*. 2010;9(3):425-474.
166. Kimura Y, Sumiyoshi M, Sakanaka M. Effects of ginsenoside Rb1 on skin changes. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012;2012:1-11.
167. Men S, Huo Q, Shi L, Yan Y, Yang C, Yu W, ve ark. *Panax notoginseng* saponins promotes cutaneous wound healing and suppresses scar formation in mice. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2020;19(2):529-534.
168. Rajput SS, Soni KK, Saxena R. Pharmacology and phytochemistry of saponin isolated from *Aloe vera* for wound healing activity. *Asian Journal of Chemistry*. 2009;21(2):1029-1032.
169. Kaur R, Arora S. Alkaloids-important therapeutic secondary metabolites of plant origin. *J Crit Rev*. 2015;2(3):1-8.
170. Roy A. A review on the alkaloids an important therapeutic compound from plants. *International Journal of Plant Biotechnology*. 2017;3(2):1-9.
171. Elsaid MB, Elnaggar DM, Owis AI, AbouZid SF, Eldahmy S. Production of isoquinoline alkaloids from the in vitro conserved *Fumaria parviflora* and their in vitro wound healing activity. *Natural Product Research*. 2021;36(10):1-8.
172. Nesterova YV, Povetieva TN, Suslov NI, Zhdanov VV, Hrichkova TY, Udut EV, ve ark. Regeneratory characteristics of complex extract and isolated diterpene alkaloids of *Aconitum baikalense*. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2012;152(4):439-443.
173. Porrás-Reyes BH, Lewis WH, Roman J, Simchowicz L, Mustoe TA. Enhancement of wound healing by the alkaloid taspine defining mechanism of action. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1993;203(1):18-25.
174. Dong Y, He L, Chen F. Enhancement of wound healing by taspine and its effect on fibroblast. *Zhong Yao Cai= Zhongyaocai= Journal of Chinese Medicinal Materials*. 2005;28(7):579-582.

175. Veberic R. The impact of production technology on plant phenolics. *Horticulturae*. 2016;2(3):8.
176. Tak Y, Kumar M. Phenolics: a key defence secondary metabolite to counter biotic stress. Lone R, Shuab R, Kamili AR, editors. *Plant Phenolics in Sustainable Agriculture*. Springer; 2020.
177. Vermerris W, Nicholson R. *Phenolic compound biochemistry*. Springer Science & Business Media; 2007.
178. Phan TT, Wang L, See P, Grayer RJ, Chan SY, Lee ST. Phenolic compounds of *Chromolaena odorata* protect cultured skin cells from oxidative damage: implication for cutaneous wound healing. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2001;24(12): 1373-1379.
179. Agar OT, Dikmen M, Ozturk N, Yilmaz MA, Temel H, Turkmenoglu FP. Comparative studies on phenolic composition, antioxidant, wound healing and cytotoxic activities of selected *Achillea L.* species growing in Turkey. *Molecules*. 2015;20(10):17976-18000.
180. Song Y, Zeng R, Hu L, Maffucci KG, Ren X, Qu Y. In vivo wound healing and in vitro antioxidant activities of *Bletilla striata* phenolic extracts. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017;93:451-461.
181. Alexandru V, Gaspar A, Savin S, Toma A, Tatia R, Gille E. Phenolic content, antioxidant activity and effect on collagen synthesis of a traditional wound healing polyherbal formula. *Studia Universitatis "Vasile Goldis" Arad. Seria Stiintele Vietii (Life Sciences Series)*. 2015;25(1):41.
182. Kaltalioglu K, Balabanli B, Coskun-Cevher S. Phenolic, Antioxidant, antimicrobial, and in-vivo wound healing properties of *Potentilla erecta L.* root extract in diabetic rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2020;19(4):264.
183. Swamy HK, Krishna V, Shankarmurthy K, Rahiman BA, Mankani KL, Mahadevan KM, et al. Wound healing activity of embelin isolated from the ethanol extract of leaves of *Embelia ribes* Burm. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007;109(3):529-534.
184. Tang T, Yin L, Yang J, Shan G. Emodin, an anthraquinone derivative from *Rheum officinale* Baill, enhances cutaneous wound healing in rats. *European Journal of Pharmacology*. 2007;567(3):177-185.
185. Fernandez R, Griffiths R. Water for wound cleansing. *Cochrane database of systematic Reviews*. 2007;5:305-307.
186. Cutting KF. Addressing the challenge of wound cleansing in the modern era. *British Journal of Nursing*. 2010;19(11):24-29.



187. Atiyeh BS, Dibo SA, Hayek SN. Wound cleansing, topical antiseptics and wound healing. *International Wound Journal*. 2009;6(6):420-430.
188. Rodeheaver GT, Ratliff CR. Wound cleansing, wound irrigation, wound disinfection, Chronic wound care. *Health Management Publications*; 1997.
189. Jiang G, Li RH, Sun C, Liu YQ, Zheng JN. Dacarbazine combined targeted therapy versus dacarbazine alone in patients with malignant melanoma: a meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(12):1-13.
190. Ugurel S, Paschen A, Becker JC. Dacarbazine in melanoma: from a chemotherapeutic drug to an immunomodulating agent. *Journal of Investigative Dermatology*. 2013;133(2):289-292.
191. Agarwala SS, Kirkwood JM. Temozolomide, a novel alkylating agent with activity in the central nervous system, may improve the treatment of advanced metastatic melanoma. *The Oncologist*. 2000;5(2):144-151.
192. Wolchok JD, Hodi FS, Weber JS, Allison JP, Urban WJ, Robert C, et al. Development of ipilimumab: a novel immunotherapeutic approach for the treatment of advanced melanoma. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2013;1291(1):-13.
193. Tarhini AA, Gogas H, Kirkwood JM. IFN- $\alpha$  in the treatment of melanoma. *The Journal of Immunology*. 2012;189(8):3789-3793.
194. Atkins MB. Interleukin-2: clinical applications. *Seminars in oncology*. Elsevier; 2002.
195. Mangana J, Levesque MP, Karpova MB, Dummer R. Sorafenib in melanoma. *Expert Opinion on Investigational Drugs*. 2012;21(4):557-568.
196. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, Haanen JB, Ascierto P, Larkin J, Dummer R, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *New England Journal of Medicine*. 2011;364(26):2507-2516.
197. Menzies AM, Long GV, Murali R. Dabrafenib and its potential for the treatment of metastatic melanoma. *Drug Design, Development and Therapy*, 2012;15(9):391-405.
198. Lugowska I, Kosęła-Paterczyk H, Kozak K, Rutkowski P. Trametinib: a MEK inhibitor for management of metastatic melanoma. *OncoTargets and Therapy*. 2015;8:2251-2259.
199. Ellis LZ, Cohen JL, High W, Stewart L. Melanoma in situ treated successfully using imiquimod after nonclearance with surgery: review of the literature. *Dermatologic Surgery*. 2012;38(6):937-946.

200. Naves LB, Dhand C, Venugopal JR, Rajamani L, Ramakrishna S, Almeida L. Nanotechnology for the treatment of melanoma skin cancer. *Progress in Biomaterials*. 2017;6:13-26.
201. Mirzaei H, Naseri G, Rezaee R, Mohammadi M, Banikazemi Z, Mirzaei HR, ve ark. Curcumin: A new candidate for melanoma therapy?. *International Journal of Cancer*. 2016;139(8):1683-1695.
202. Kim HS, Kim MJ, Kim EJ, Yang Y, Lee MS, Lim JS. Berberine-induced AMPK activation inhibits the metastatic potential of melanoma cells via reduction of ERK activity and COX-2 protein expression. *Biochemical Pharmacology*. 2012;83(3):385-394.
203. Hamsa TP, Kuttan G. Harmine activates intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis in B16F-10 melanoma. *Chinese Medicine*. 2011;6(1):1-8.
204. Hamsa T, Kuttan G. Ipobscurine, an indole alkaloid from *Ipomoea obscura*, inhibits tumor cell invasion and experimental metastasis by inducing apoptosis. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*. 2011;30(2):163-178.
205. Lu MK, Shih YW, Chien TTC, Fang LH, Huang HC, Chen PS.  $\alpha$ -Solanine inhibits human melanoma cell migration and invasion by reducing matrix metalloproteinase-2/9 activities. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2010;33(10):1685-1691.
206. Manu KA, Kuttan G. Punarnavine induces apoptosis in B16F-10 melanoma cells by inhibiting NF- $\kappa$ B signaling. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2009;10(6):1031-1038.
207. Sun Q, Cong R, Yan H, Gu H, Zeng Y, Liu N, ve ark. Genistein inhibits growth of human uveal melanoma cells and affects microRNA-27a and target gene expression. *Oncology Reports*. 2009;22(3):563-567.
208. Su CC, Wang CJ, Huang KH, Lee YJ, Chan WM, Chang YC. Anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* calyx attenuate in vitro and in vivo melanoma cancer metastasis. *Journal of Functional Foods*. 2018;48:614-631.
209. Gómez-Cordovés C, Bartolomé B, Vieira W, Virador VM. Effects of wine phenolics and sorghum tannins on tyrosinase activity and growth of melanoma cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001;49(3):1620-1624.
210. Vaid M, Prasad R, Sun Q, Katiyar SK. Silymarin targets  $\beta$ -catenin signaling in blocking migration/invasion of human melanoma cells. *PloS One*. 2011;6(7):1-10.

211. Caltagirone S, Rossi C, Poggi A, Ranelletti FO, Natali PG, Brunetti M, ve ark. Flavonoids apigenin and quercetin inhibit melanoma growth and metastatic potential. *International Journal of Cancer*. 2000.;**87**(4):595-600.
212. Caltagirone S, Rossi C, Poggi A, Ranelletti FO, Natali PG, Brunetti M, ve ark. Flavonoids apigenin and quercetin inhibit melanoma growth and metastatic potential. *International Journal of Cancer*. 2000.;**87**(4):595-600.
213. Choi MH, Jo HG, Yang JH, Ki SH, Shin HJ. Antioxidative and anti-melanogenic activities of bamboo stems (*Phyllostachys nigra* variety henosis) via PKA/CREB-mediated MITF downregulation in B16F10 melanoma cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;**19**(2):409.
214. Guruvayoorappan C, Kuttan G. Amentoflavone stimulates apoptosis in B16F-10 melanoma cells by regulating bcl-2, p53 as well as caspase-3 genes and regulates the nitric oxide as well as proinflammatory cytokine production in B16F-10 melanoma cells, tumor associated macrophages and peritoneal macrophages. *Journal of Experimental Therapeutics & Oncology*. 2008;**7**(3):207–218.
215. Bhattacharya S, Darjatmoko SR, Polans AS. Resveratrol modulates the malignant properties of cutaneous melanoma via changes in the activation and attenuation of the anti-apoptotic proto-oncogenic protein Akt/PKB. *Melanoma Research*. 2011;**21**(3):180.
216. Xu X, Liu Y, Wang L, He J, Zhang H, Chen X, ve ark. Gambogic acid induces apoptosis by regulating the expression of Bax and Bcl-2 and enhancing caspase-3 activity in human malignant melanoma A375 cells. *International Journal of Dermatology*. 2009;**48**(2):186-192.
217. Sultanbawa M. Xanthonoids of tropical plants. *Tetrahedron*. 1980;**36**(11):1465-1506.
218. Pinto M, Sousa M, Nascimento M. Xanthone derivatives: new insights in biological activities. *Current Medicinal Chemistry*. 2005;**12**(21):2517-2538.
219. Kou X, Chen N. Pharmacological potential of ampelopsin in Rattan tea. *Food Science and Human Wellness*. 2012;**1**(1):14-18.
220. Buommino E, Baroni A, Canozo N, Petrazzuolo M, Nicoletti R, Voza A, ve ark. Artemisinin reduces human melanoma cell migration by down-regulating  $\alpha\beta 3$  integrin and reducing metalloproteinase 2 production. *Investigational New Drugs*. 2009;**27**:412-418.
221. Guruvayoorappan C, Kuttan G.  $\beta$ -carotene inhibits tumor-specific angiogenesis by altering the cytokine profile and inhibits the nuclear translocation of transcription factors in B16F-10 melanoma cells. *Integrative Cancer Therapies*. 2007;**6**(3):258-270.

222. Başaran E, Sümer A, Cansaran-duman D. Genomik, proteomik, metabolomik kavramlarına genel bakış ve uygulama alanları. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*. 2010;67(2):85-96.
223. Dunn WB, Bailey NJ, Johnson HE. Measuring the metabolome: current analytical technologies. *Analyst*. 2005;30(5):606-625.
224. Orešič M, Vidal-Puig A, Hänninen V. Metabolomic approaches to phenotype characterization and applications to complex diseases. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. 2006;6(4):575-585.
225. Dayalan S, Xia J, Spicer RA, Salek R. *Metabolome analysis*. Elsevier; 2019.
226. Goodacre R. Metabolomics—the way forward. *Metabolomics*. 2005;1(1):1-2.
227. raga CP, Adamec J. Metabolome analysis. *Encyclopedia of Bioinformatics and computational Biology: ABC Of Bioinformatics*. Elsevier; 2018.
228. Zhang A, Sun H, Wang P, Han Y, Wang X. Modern analytical techniques in metabolomics analysis. *Analyst*. 2012;137(2):293-300.
229. Xiao JF, Zhou B, Ressom HW. Metabolite identification and quantitation in LC-MS/MS-based metabolomics. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2012;32:1-14.
230. Vestal ML. High-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Science*. 1984;226(4672):275-281
231. Parasuraman S, Anish R, Balamurugan S, Muralidharan S, Kumar KJ, Vijayan V. An overview of liquid chromatography-mass spectroscopy instrumentation. *Pharmaceutical Methods*. 2014;5(2):47-55.
232. Agrawa V. Separation studies of organic and inorganic compounds [Doktora]. India: Aligarh Muslim University; 2001.
233. Coskun O. Separation techniques: chromatography. *Northern Clinics of Istanbul*. 2016;3(2):156.
234. uvela P, Skoczylas M, Jay Liu J, Bączek T, Kaliszan R, Wong MW, ve ark. Column characterization and selection systems in reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Chemical Reviews*. 2019;119(6):3674-3729.
235. Akash MSH, Rehman K. High performance liquid chromatography. *Essentials of Pharmaceutical Analysis*. Springer; 2020.

236. Bhardwaj SK, Dwivedia K, Agarwala D. A review: HPLC method development and validation. *International Journal of Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2015;5(4):76-81.
237. Agrahari V, Bajpai M, Nanda S. Essential concepts of mobile phase selection for reversed phase HPLC. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2013;6(5):459-464.
238. Shoykhet K, Broeckhoven K, Dong MW. Modern HPLC pumps: perspectives, principles, and practices. *LC GC North America*. 2019;37(6):374-384.
239. Ali AH. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): A review. *Annals of Advances in Chemistry*. 2022;6:10-20.
240. Swartz M. HPLC detectors: a brief review. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2010;33(9-12):1130-1150.
241. Scott RPW. *Liquid Chromatography Detectors*. Elsevier; 1986.
242. Rajawat J, Jhingan G. *Mass spectroscopy. Data Processing Handbook for Complex Biological Data Sources*. Elsevier; 2019.
243. Dass C. *Fundamentals of Contemporary Mass Spectrometry*. New Jersey: John Wiley & Sons; 2007.
244. Allen DR, McWhinney BC. Quadrupole time-of-flight mass spectrometry: a paradigm shift in toxicology screening applications. *The Clinical Biochemist Reviews*. 2019;40(3):135.
245. Hu S, Liu C, Liu X. Innovative Application of Metabolomics on Bioactive Ingredients of Foods. *Foods*. 2022;11(19):2974.
246. Hendriks MM, van Eeuwijk FA, Jellema RH, Westerhuis JA, Reijmers TH, Hoefsloot HC, ve ark. Data-processing strategies for metabolomics studies. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2011;30(10):1685-1698.
247. Katajamaa M, OrešičM. Data processing for mass spectrometry-based metabolomics. *Journal of Chromatography A*. 2007;1158(1-2):318-328.
248. Yi L, Dong N, Yun Y, Deng B, Ren D, Liu S, ve ark. Chemometric methods in data processing of mass spectrometry-based metabolomics: A review. *Analytica Chimica Acta*. 2016;914:17-34.
249. Mahieu NG, Genenbacher JL, Patti GJ. A roadmap for the XCMS family of software solutions in metabolomics. *Current Opinion in Chemical Biology*. 2016;30: 87-93.

250. Huan T, Forsberg EM, Rinehart D, Johnson CH, Ivanisevic J, Benton HP, ve ark. Systems biology guided by XCMS Online metabolomics. *Nature Methods*. 2017;14(5):461-462.
251. Smith RA, Zhang Q. Peak Pair Pruner: a post-processing software to MS-DIAL for peak pair validation and ratio quantification of isotopic labeling LC-MS (/MS) data. *Bioinformatics Advances*. 2023;3(1):1-3.
252. Tsugawa H, Cajka T, Kind T, Ma Y, Higgins B, Ikeda K, ve ark. MS-DIAL: data-independent MS/MS deconvolution for comprehensive metabolome analysis. *Nature Methods*. 2015;12(6):523-526.
253. Chong J, Soufan O, Li C, Caraus I, Li S, Bourque G, ve ark. MetaboAnalyst 4.0: towards more transparent and integrative metabolomics analysis. *Nucleic Acids Research*. 2018;46(1): 486-494.
254. Pang Z, Chong J, Zhou G, de Lima Morais DA, Chang L, Barrette M, ve ark. MetaboAnalyst 5.0: narrowing the gap between raw spectra and functional insights. *Nucleic Acids Research*. 2021;49(1):388-396.
255. Wishart DS, Tzur D, Knox C, Eisner R, Guo AC, Young N, ve ark. HMDB: the human metabolome database. *Nucleic Acids Research*. 2007;35(1):521-526.
256. Wishart DS, Guo AC, Oler E, Wang F, Anjum A, Peters H, ve ark. HMDB 5.0: the human metabolome database for 2022. *Nucleic Acids Research*, 2022;50(1):622-631.
257. Ruiz-Perez D, Guan H, Madhivanan P, Mathee K, Narasimhan G. So you think you can PLS-DA?. *BMC Bioinformatics*. 2020;21(1):1-10.
258. Lee LC, Liong CY, Jemain AA. Partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) for classification of high-dimensional (HD) data: a review of contemporary practice strategies and knowledge gaps. *Analyst*. 2018;143(15):3526-3539.
259. Zhang Z, Castelló A. Principal components analysis in clinical studies. *Annals of Translational Medicine*. 2017;5(17):1-7.
260. Sinharay S. *An overview of statistics in education*. Elsevier; 2010.
261. Hong J, Yang L, Zhang D, Shi J. Plant metabolomics: an indispensable system biology tool for plant science. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016;17(6):767.
262. Razzaq A, Sadia B, Raza A, Khalid Hameed M, Saleem F. Metabolomics: A way forward for crop improvement. *Metabolites*. 2019;9(12):303.

263. Moco S, Vervoort J, Bino RJ, De Vos RC, Bino R. Metabolomics technologies and metabolite identification. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2007;26(9): 855-866.
264. Nagendla NK, Muralidharan K, Raju M, Mohan H, Selvakumar P, Bhandi MM, ve ark. Comprehensive metabolomic analysis of *Mangifera indica* leaves using UPLC-ESI-Q-TOF-MSE for cell differentiation: An in vitro and in vivo study. *Food Research International*. 2023;171:112993.
265. Chen L, Li J, Ke X, Sun C, Huang X, Jiang P, ve ark. Chemical profiling and the potential active constituents responsible for wound healing in *Periploca forrestii* Schltr. *Journal of Ethnopharmacology*. 2018;224:230-241.
266. Nawrot-Hadzik I, Matkowski A, Piłula A, Sterczała B, Olchowy C, Szewczyk A, ve ark. A. In vitro gingival wound healing activity of extracts from *reynoutria japonica* houtt rhizomes. *Pharmaceutics*. 2021;13(11):1764.
267. Burlingham BT, Widlanski TS. An intuitive look at the relationship of  $K_i$  and  $IC_{50}$ : a more general use for the Dixon plot. *Journal of Chemical Education*. 2003;80(2):214.
268. Rahman AA, Aziz AA, Shamsuddin S. Determining the size and concentration dependence of gold nanoparticles in vitro cytotoxicity ( $IC_{50}$ ) test using WST-1 assay. *AIP Conference Proceedings*. Kuala Lumpur: AIP Publishing; 2015.
269. Erkekoğlu P, Baydar T. Güncel in vitro sitotoksisite testleri. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*. 2021;41(1):45-63.
270. Zhang J, Wider B, Shang H, Li X, Ernst E. Quality of herbal medicines: challenges and solutions. *Complementary Therapies in Medicine*. 2012;20(1-2):100-106.
271. Nyamundanda G, Brennan L, Gormley IC. Probabilistic principal component analysis for metabolomic data. *BMC Bioinformatics*. 2010;11(1):1-11.
272. Chen Y, Li EM, Xu LY. Guide to metabolomics analysis: a bioinformatics workflow. *Metabolites*. 2022;12(4):357.
273. Ooi CP, Yassin Z, Hamid TA. *Momordica charantia* for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2012;(8):1-43.
274. Tang JW, Xiong XS, Qian CL, Liu QH, Wen PB, Shi XY, ve ark. Network pharmacological analysis of ethanol extract of *Morus alba* linne in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Arabian Journal of Chemistry*. 2021;14(10):103384.

275. Su MJ. Studies of the Hypoglycemic Action of Salsolinol in Type 2 Diabetic Mice [Bildiri]. Proceedings for Annual Meeting of The Japanese Pharmacological Society WCP2018 (The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology); 1 Temmuz; 2018; Kyoto.
276. Arsenio L, Caronna S, Lateana M, Magnati G, Strata A, Zammarchi G. Hyperlipidemia, diabetes and atherosclerosis: efficacy of treatment with pantethine. *Acta Bio-medica de L'ateneo Parmense: Organo Della Societa di Medicina e Scienze Naturali di Parma*. 1984;55(1):25-42.
277. Eto M, Watanabe K, Chonan N, Ishii K. Lowering effect of pantethine on plasma beta-thromboglobulin and lipids in diabetes mellitus. *Artery*. 1987; 15(1):1-12.
278. Melzig MF, Putscher I, Haber H, Rottmann M, Zipper J. Toxicity and pharmacological effects of salsolinol in different cultivated cells. *Pharmacology of Endogenous Neurotoxins: A Handbook*. 1998;253-266.
279. Yang YF. Salsolinol, a constituent from herbal plant, accelerated wound healing in diabetic rats [Bildiri]. Proceedings for Annual Meeting of The Japanese Pharmacological Society WCP2018 (The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology); 1 Temmuz; 2018; Kyoto.
280. Shu CH, Jaiswal R, Peng YY, Liu TH. Improving bioactivities of *Momordica charantia* broth through fermentation using mixed cultures of *Lactobacillus plantarum*, *Gluconacetobacter* sp. and *Saccharomyces cerevisiae*. *Process Biochemistry*. 2022;117:142-152.
281. Li H, Yao Y, Li L. Coumarins as potential antidiabetic agents. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2017;69(10):1253-1264.
282. Islam J, Shirakawa H, Nguyen TK, Aso H, Komai M. Simultaneous analysis of serotonin, tryptophan and tryptamine levels in common fresh fruits and vegetables in Japan using fluorescence HPLC. *Food Bioscience*. 2016;13:56-59.
283. Inubushi T, Kamemura N, Oda M, Sakurai J, Nakaya Y, Harada N, ve ark. L-tryptophan suppresses rise in blood glucose and preserves insulin secretion in type-2 diabetes mellitus rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 2012;58(6):415-422.
284. Sugimoto Y, Yamada J, Kimura I, Watanabe Y, Horisaka K. Inhibitory effects of tryptamine on tolbutamide-induced hypoglycemia in mice: Mediation by 5-HT receptors. *Neurochemical Research*. 1994;19:19-22.



285. Aremu MO, Waziri AA, Faleye FJ, Magomya AM, Okpaegbe UC. Lipids profile of bitter melon (*Momordica charantia* L.) fruit and ebony (*Diospyros mespiliformis* Hochst ex A. DC.) tree fruit pulp. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*. 2019;54(4): 367-374.
286. Yang P, Li X, Shipp MJ, Shockey JM, Cahoon EB. Mining the bitter melon (*Momordica charantia* L.) seed transcriptome by 454 analysis of non-normalized and normalized cDNA populations for conjugated fatty acid metabolism-related genes. *BMC Plant Biology*. 2010;10:1-20.
287. Kahraman E, Kaykın M, Şahin Bektay H, Güngör S. Recent advances on topical application of ceramides to restore barrier function of skin. *Cosmetics*. 2019;6(3):52.
288. Amorim CZ, Marques AD, Cordeiro RSB. Screening of the antimalarial activity of plants of the Cucurbitaceae family. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 1991.86:177-180.
289. Ahmad N, Hasan N, Ahmad Z, Zishan M, Zohrameena S. *Momordica charantia*: for traditional uses and pharmacological actions. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2016;6(2):40-44.
290. Christy AO, Mojisola COC, Taiwo EO, Ola OO. The antimalaria effect of *Momordica charantia* L. and *Mirabilis jalapa* leaf extracts using animal model. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2016;10(24):344-350.
291. Ramalhete C, Gonçalves BMF, Barbosa F, Duarte N, Ferreira MJU. *Momordica balsamina*: phytochemistry and pharmacological potential of a gifted species. *Phytochemistry Reviews*. 2022;21(2):617-646.
292. Thangavel P, Ramachandran B, Chakraborty S, Kannan R, Lonchin S, Muthuvijayan V. Accelerated healing of diabetic wounds treated with L-glutamic acid loaded hydrogels through enhanced collagen deposition and angiogenesis: an in vivo study. *Scientific Reports*. 2017;7(1):1-15.
293. Jais AMM, McCulloch R, Croft K. Fatty acid and amino acid composition in haruan as a potential role in wound healing. *General Pharmacology: The Vascular System*. 1994;25(5):947-950.
294. Ahmad Z, Zamhuri KF, Yaacob A, Siong CH, Selvarajah M, Ismail A, ve ark. In vitro anti-diabetic activities and chemical analysis of polypeptide-k and oil isolated from seeds of *Momordica charantia* (bitter gourd). *Molecules*. 2012;17(8):9631-9640.
295. Du J, Chan LY, Poth AG, Craik DJ. Discovery and characterization of cyclic and acyclic trypsin inhibitors from *Momordica dioica*. *Journal of Natural Products*, 2019;82(2): 293-300.

296. Shepelin D, Korzinkin M, Vanyushina A, Aliper A, Borisov N, Vasilov R, ve ark. Molecular pathway activation features linked with transition from normal skin to primary and metastatic melanomas in human. *Oncotarget*. 2016;7(1):656..
297. Krummel TM, Neifeld JP, Taub RN. Effects of dopamine agonists and antagonists on murine melanoma: correlation with dopamine binding activity. *Cancer*. 1982;49(6):1178-1184.
298. Yoon JK, Frankel AE, Feun LG, Ekmekcioglu S, Kim KB. Arginine deprivation therapy for malignant melanoma. *Clinical pharmacology: Advances and Applications*. 2013;5:11-19.
299. Qiu F, Huang J, Sui M. Targeting arginine metabolism pathway to treat arginine-dependent cancers. *Cancer Letters*. 2015;364(1):1-7.
300. Gomes MM, Coimbra JB, Clara RO, Dörr FA, Moreno ACR, Chagas JR, ve ark. Biosynthesis of N, N-dimethyltryptamine (DMT) in a melanoma cell line and its metabolization by peroxidases. *Biochemical Pharmacology*. 2014;88(3):393-401.
301. Chen YC, Gowda R, Newswanger RK, Leibich P, Fell B, Rosenberg G, ve ark. Targeting cholesterol transport in circulating melanoma cells to inhibit metastasis. *Pigment Cell & Melanoma Research*. 2017;30(6): 541-552.
302. Ross T, Jakubzig B, Grundmann M, Massing U, Kostenis E, Schlesinger M, Bendas G. The molecular mechanism by which saturated lysophosphatidylcholine attenuates the metastatic capacity of melanoma cells. *FEBS Open Bio*. 2016;6(12):1297-1309.
303. McEwan M, Parsons PG. Inhibition of melanization in human melanoma cells by a serotonin uptake inhibitor. *Journal of Investigative Dermatology*. 1987;89(1):82-86.
304. Weinlich G, Murr C, Richardsen L, Winkler C, Fuchs D. Decreased serum tryptophan concentration predicts poor prognosis in malignant melanoma patients. *Dermatology*. 2006;214(1): 8-14.
305. Moreno ACR, de Freitas Saito R, Tiago M, Massaro RR, Pagni RL, Pegoraro R, ve ark. Melatonin inhibits human melanoma cells proliferation and invasion via cell cycle arrest and cytoskeleton remodeling. *Melatonin Research*. 2020;3(2): 194-209.
306. Wang DM, Jiao X, Plotnikoff NP, Griffin N, Qi RQ, Gao XH, Shan FP. Killing effect of methionine enkephalin on melanoma in vivo and in vitro. *Oncology Reports*. 2017;38(4): 2132-2140.

307. Wick MM. The chemotherapy of malignant melanoma. *Journal of Investigative Dermatology*. 1983;80:61-62.
308. Vene R, Castellani P, Delfino L, Lucibello M, Ciriolo MR, Rubartelli A. The cystine/cysteine cycle and GSH are independent and crucial antioxidant systems in malignant melanoma cells and represent druggable targets. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2011;15(9):2439-2453.
309. Prasad KN, Edwards-Prasad J. Effects of tocopherol (vitamin E) acid succinate on morphological alterations and growth inhibition in melanoma cells in culture. *Cancer Research*. 1982;42(2):550-555.
310. Li X, Zhou L, Yu Y, Zhang J, Wang J, Sun B. The potential functions and mechanisms of oat on cancer prevention: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022;70(46):14588-14599.
311. Xia T, Lei H, Wang J, He Y, Wang H, Gao L, ve ark. Identification of an ergosterol derivative with anti-melanoma effect from the sponge-derived fungus *Pestalotiopsis* sp. XWS03F09. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13:1008053.
312. Kaplan M, Koparan M, Sari A, Ozturk S, Kaplan SK, Erol FS. Can behenic acid (C22: 0) levels be a prognostic factor in glial tumors? *Canadian Journal of Neurological Sciences*. 2013;40(6):854-856.
313. Huang ZR, Lin YK, Fang JY. Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: potential uses in cosmetic dermatology. *Molecules*. 2009;14(1):540-554.
314. Ordóñez YF, González J, Bedia C, Casas J, Abad JL, Delgado A, ve ark. 3-Ketosphinganine provokes the accumulation of dihydroshingolipids and induces autophagy in cancer cells. *Molecular BioSystems*. 2016;12(4): 1166-1173.
315. Madhunapantula SRV, Hengst J, Gowda R, Fox TE, Yun JK, Robertson GP. Targeting sphingosine kinase-1 to inhibit melanoma. *Pigment Cell & Melanoma Research*. 2012;25(2):259-274.
316. Wang D, DuBois RN. Eicosanoids and cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2010;10(3):181-193.
317. Laihia JK, Kallio JP, Taimen P, Kujari H, Kähäri VM, Leino L. Protodynamic intracellular acidification by cis-urocanic acid promotes apoptosis of melanoma cells in vitro and in vivo. *Journal of Investigative Dermatology*. 2010;130(10):2431-2439.

318. Bilal F, Montfort A, Gilhodes J, Garcia V, Riond J, Carpentier S, et al. Sphingomyelin synthase 1 (SMS1) downregulation is associated with sphingolipid reprogramming and a worse prognosis in melanoma. *Frontiers in Pharmacology*, 2019;10:443.

## 8. EKLER

### EK-1: IPO Optimizasyon Kodu ve Optimizasyon Parametreleri

#### Optimizasyon Kodu

```
library(IPO)

# use centwave if you use obitrapp

peakpickingParameters <- getDefaultXcmsSetStartingParams('matchedFilter')
#setting levels for min_peakwidth to 10 and 20 (hence 15 is the center point)
peakpickingParameters$min_peakwidth <- c(10,20)
peakpickingParameters$max_peakwidth <- c(26,42)
#setting only one value for ppm therefore this parameter is not optimized
peakpickingParameters$ppm <- 20

resultPeakpicking <-
  optimizeXcmsSet(params = peakpickingParameters,
                 nSlaves = 4,
                 subdir = 'rsmDirectory')

optimizedXcmsSetObject <- resultPeakpicking$best_settings$xset
retcorGroupParameters <- getDefaultRetGroupStartingParams()
retcorGroupParameters$profStep <- 1

resultRetcorGroup <-
  optimizeRetGroup(xset = optimizedXcmsSetObject,
                  params = retcorGroupParameters,
                  nSlaves = 4,
                  subdir = "rsmDirectory")

writeRScript(resultPeakpicking$best_settings$parameters,
             resultRetcorGroup$best_settings,
             nSlaves=12)
```

## Optimizasyon Parametreleri

```
library(xcms)
```

```
library(Rmpi)
```

```
xset <- xcmsSet(
```

```
  method = "matchedFilter",
```

```
  fwhm   = 25,
```

```
  snthresh = 3,
```

```
  step    = 0.05,
```

```
  steps   = 1,
```

```
  sigma   = 10.6166128758281,
```

```
  max     = 5,
```

```
  mzdiff  = 0.75,
```

```
  index   = FALSE)
```

```
xset <- retcor(
```

```
  xset,
```

```
  method   = "obiwarp",
```

```
  plottype = "none",
```

```
  distFunc = "cor_opt",
```

```
  profStep = 1,
```

```
  center   = 1,
```

```
  response = 1,
```

```
  gapInit  = 0.8704,
```

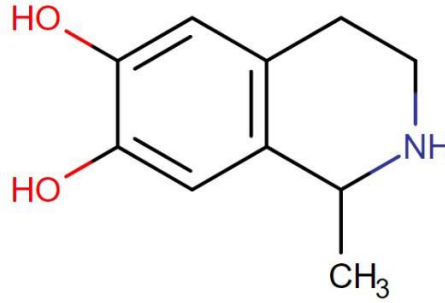
```
  gapExtend = 2.688,
```

```
factorDiag = 2,  
factorGap = 1,  
localAlignment = 0)  
xset <- group(  
  xset,  
  method = "density",  
  bw = 0.8799999999999999,  
  mzwid = 0.02122,  
  minfrac = 1,  
  minsamp = 1,  
  max = 50)  
xset <- fillPeaks(xset)  
reporttab <- diffreport(xset, "M", "T", "centwave", 10000, metlin=0.005, h=480,  
w=640)
```

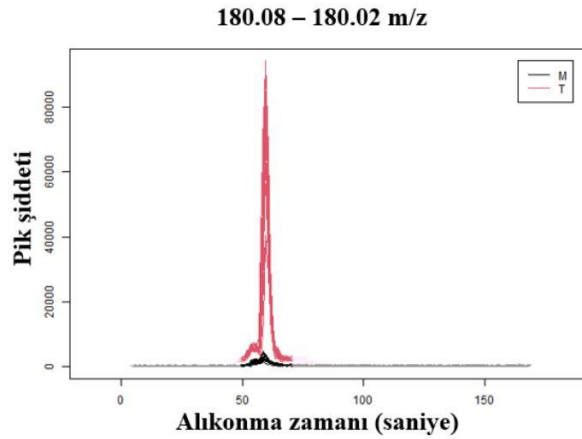
## EK-2: Bitki Metabolomisinde Eşleşme Sağlanan Metabolitlerin HMDB (İnsan Metabolom Veribankası) Bilgisi

### (R)-Salsolinol

Salsolinol, insanlarda bulunan endojen bir katekol izokinolindir. L-DOPA uygulanan parkinson hastalarının idrarında salsolinol saptanmıştır. Salsolinol birinci konumda asimetrik bir merkeze sahiptir ve (R)- ve (S)-enantiyomer olarak bulunur. Salsolinol'ün (R) enantiyomeri, sağlıklı gönüllülerden alınan idrarda baskındır. İnsan beyinde, beyin omurilik sıvısında (BOS) ve intraventriküler sıvıda (IVF) yalnızca Salsolinol ve N-metillenmiş Salsolinol'ün (R)-enantiyomerleri bulunur ve (S)-enantiyomerleri tespit edilmemiştir [1]



(R)-Salsolinol genel yapısı.

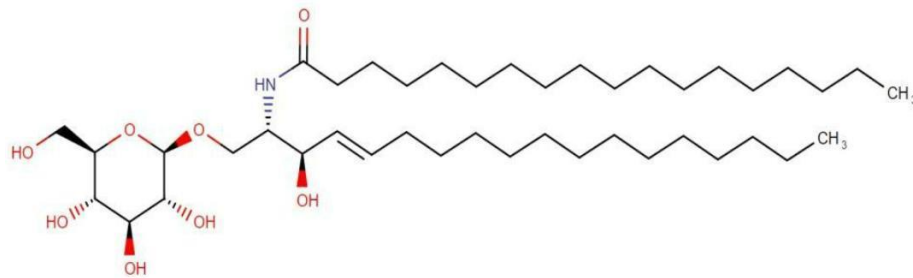


(R)-Salsolinol metabolitine ait ayrılmış iyon kromatogramı.

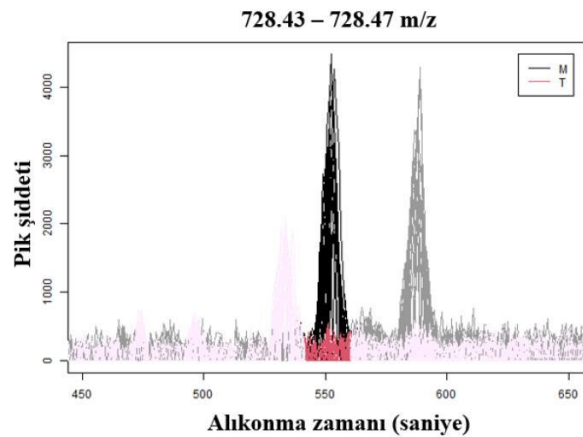


## Glukozilseramid

GlcCer(d18:1/18:0), şeker zincirine bağlı bir veya daha fazla sialik asit (yani n-asetilnöraminik asit) içeren bir glikosfingolipid (seramid ve oligosakarit) veya oligoglikosilseramiddir. Hücre sinyal iletim olaylarını modüle eden hücre plazma zarının bir bileşenidir. Gangliositlerin immünolojide oldukça önemli olduğu bulunmuştur. Dört tip glikosfingolipid vardır; serebrositler, sülfatidler, globositler ve gangliositler. Serebrositler, seramide bağlı tek bir şeker grubuna sahiptir. En yaygın olanları galaktoserebrositlerdir, en az yaygın olanı glukoserebrositlerdir. Galaktoserebrositler ağırlıklı olarak nöronal hücre zarlarında bulunur. Aksine, glukoserebrositler normalde zarlarda bulunmaz. Bunun yerine, tipik olarak daha karmaşık glikosfingolipidlerin sentezinde veya bozunmasında ara maddelerdir. Galaktoserebrositler, seramid ve UDP-galaktozdan sentezlenir. [2].



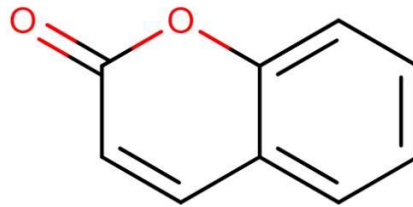
Glukozilseramid genel yapısı.



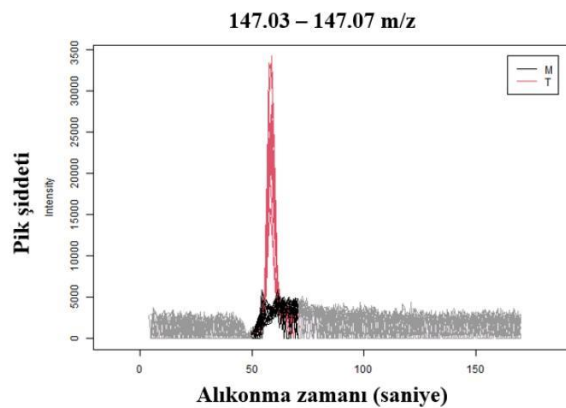
Glukozilseramid metabolitine ait ayrılmış iyon kromatogramı.

## Kumarin

Kumarin, kromonlar olarak bilinen kimyasallar sınıfına aittir. Kumarin ayrıca bir benzopiron olarak tanımlanır ve bir lakton olarak kabul edilir. Başta varfarin olmak üzere birçok antikoagülanın öncüsü olarak klinik öneme sahiptir. Farmasötik olarak kumarin, çok çeşitli dozlama rejimleri ile çeşitli uygulamalarda kullanılmıştır. Kumadin ve diğer kumarin türevlerinin aksine, kumarinin pıhtılaşmayı önleyici etkisi yoktur. Bununla birlikte, düşük dozlarda kumarin damar sağlığını ve küçük venül kan akışını desteklemek için 'venotonik' olarak kullanılmıştır. Ayrıca kumarin, çeşitli etiyojilerden kaynaklanan yüksek proteinli lenfödem tedavisinde klinik olarak kullanılmaktadır [3].



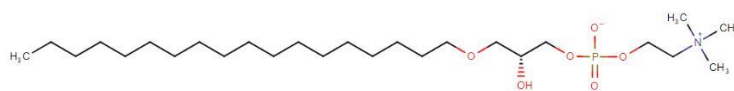
Kumarin genel yapısı.



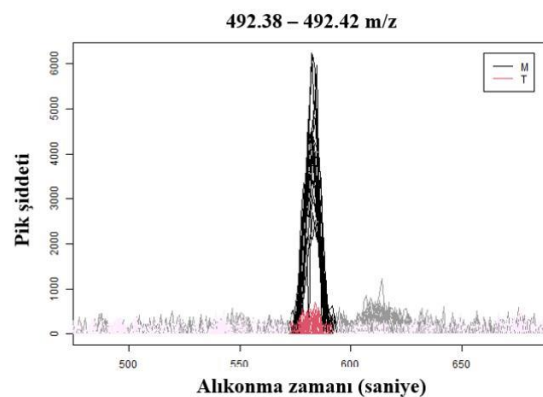
Kumarin metabolitine ait ayrılmış iyon kromatogramı.

### LysoPC(O-18:0/0:0)

1-Oktadesil-sn-glisero-3-fosfokolin, eter lipid metabolizma yolundaki bir ara maddedir, 1-Oktadesil-sn-glisero-3-fosfokolin, bir eter fosfo-eter lipididir. Plazmalojenler, gliserol eter fosfolipitleridir. Lizofosfatidilkolinler, hücre içi kalsiyum mobilizasyonunu indükler ve farklı hücre sistemlerinde artan glikozla uyarılan insülin sekresyonuna yol açar. Kanda veya plazmada lizofosfatidilkolinler esas olarak albümine ve daha az ölçüde lipoproteinlere bağlanır. Enflamasyon, hücre hasarı ve diğer patofizyolojik durumlar, artan LPC üretimi veya azalan plazma albümin seviyeleri yoluyla serbest ve albümine bağlı LPC oranını değiştirebilir. Artmış ölüm riski ile ilişkili oldukları romatoid artrit, diyabet, şizofreni, polikistik over sendromu, Alzheimer hastalığı, pulmoner arteriyel hipertansiyon, yaşlanma, astım ve karaciğer sirozu dahil olmak üzere sepsisin ötesinde bir dizi başka enflamatuvar durumda lizofosfatidilkolin seviyelerinde azalma gözlemlenmiştir. Lizofosfatidilkolinlerin bir dizi koruyucu veya anti-enflamatuvar etkisi vardır. Daha yüksek lizofosfatidilkolin seviyeleri, endotel hücrelerde siklooksijenaz-2 ve endotel nitrik oksit sentaz ekspresyonunu indükler, bunların her ikisi de prostasiklin veya nitrik üretimi yoluyla vazoprotektif etkilere sahip olabilir. Lizofosfatidilkolinlerin doğuştan gelen bağışıklık sistemi üzerinde bir dizi etki ortaya çıkarmaktadır ve etkili bir de çift aktiviteli ligand molekülleri olarak hizmet etmektedirler [4].



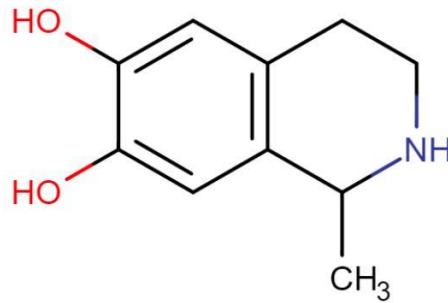
LysoPC(O-18:0/0:0) genel yapısı.



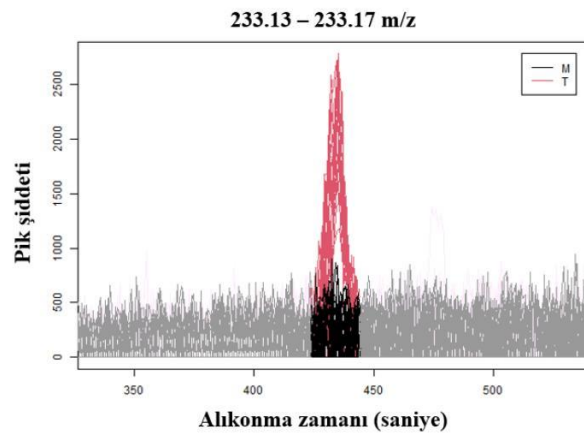
LysoPC(O-18:0/0:0) metabolitine ait ayrılmış iyon kromatogramı.

## Pantetein

Pantetein, beta amino asitler ve türevleri olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir. Bunlar, beta karbon atomuna bağlı bir (-NH<sub>2</sub>) grubuna sahip amino asitlerdir. Bu bileşiğin dimeri olan pantetin daha yaygın olarak bilinir ve B5 vitamininin en güçlü formu olarak kabul edilir. Pantetein, vücut tarafından koenzim A üretiminde bir ara maddedir. Pantetein, bakterilerden insanlara kadar tüm canlı organizmalarda bulunur. Pantetein, panteteinaz enziminin etkisiyle pantotenik asit ve sisteamine dönüştürülebilir. Ek olarak pantetein, pantotenat kinaz 1 enzimi ile etkileşimi yoluyla pantetein 4'-fosfata dönüştürülebilir, Pantetein, insanlarda pantotenat ve koenzimA biyosentezinde yer alır. Pantetein, pantotenik asidin (B5 vitamini) sisteamin amid analogudur [5].



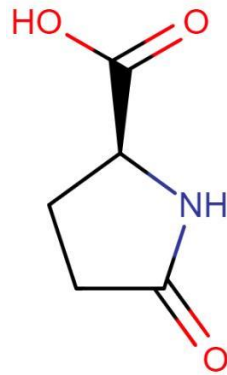
Pantetein genel yapısı.



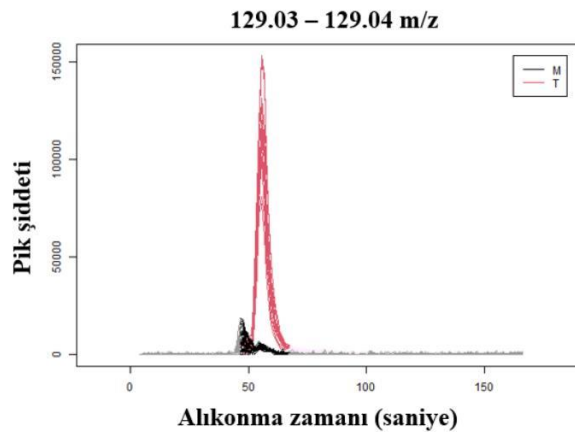
Pantetein metabolitine ait ayrılmış iyon kromatogramı.

## Piroglutamik asit

Piroglutamik asit (5-oksoprolin), L-glutamik asidin siklize bir türevidir. Glutamik asidin serbest amino grubunun bir laktam oluşturmak üzere siklize olduğu nadir bir amino asit türevidir. Yüksek kan seviyeleri, glutamin veya glutatyon metabolizması problemleriyle ilişkilendirilebilir. Bu bileşik, beyin dokusunda ve diğer dokularda, özellikle ciltte, bağlı formda önemli miktarlarda bulunur. Bitki dokularında da bulunur. Kronik olarak yüksek piroglutamik asit seviyeleri en az beş kalıtsal metabolizma bozukluğu ile ilişkilidir. Piroglutamik asit organik bir asittir. Kanda, idrarda, beyinde ve diğer dokularda anormal derecede yüksek organik asit seviyeleri genel metabolik asidoza yol açar, Asidoz tipik olarak arteriyel pH 7,35'in altına düştüğünde ortaya çıkar. Yetişkinlerde asidoz veya asidemi, baş ağrısı, kafa karışıklığı, yorgun hissetme, titreme, uyku hali ve nöbetlerle karakterizedir [6].



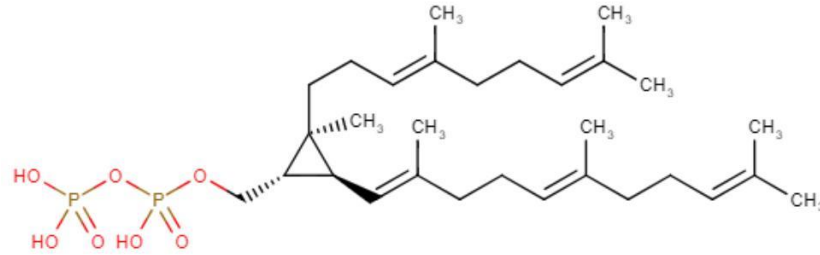
Piroglutamik asit genel yapısı.



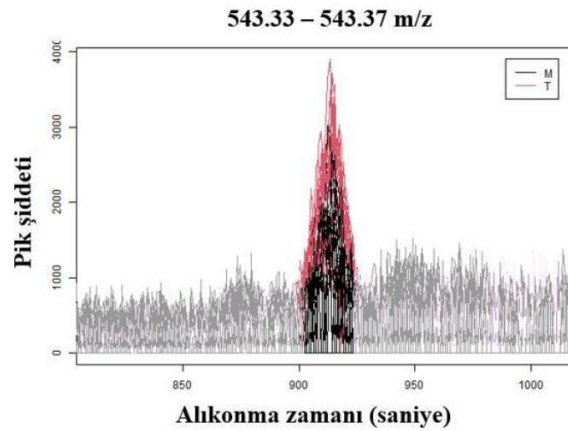
Piroglutamik asit metabolitine ait ayrılmış iyon kromatogramı.

## Preskualen difosfat

Preskualen difosfat, triterpenoidler olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir. Bunlar altı izopren birimi içeren terpen molekülleridir. Presqualene difosfat pKa'sına göre orta derecede asidik bir bileşiktir [7].



Preskualen difosfat genel yapısı.



Preskualen difosfat metabolitine ait ayrılmış iyon kromatogramı.

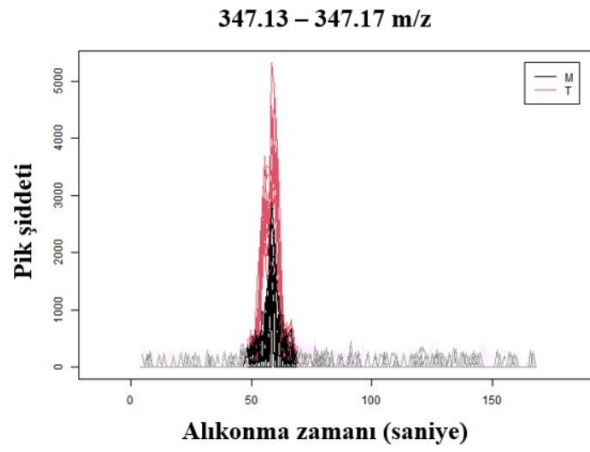
## Triptamin

Triptamin, bağırsak mikrobiyotası tarafından dönüştürülen bir triptofan katabolitidir. Triptofan katabolitleri, bağırsak epitelinden emildikten sonra kan dolaşımına girer ve daha sonra idrarla atılır. Triptamin, birçok hormon ve nörotransmitter için ortak bir öncü molekül olan bir monoamin bileşiğidir. Biyosentez genellikle amino asit triptofandan ilerler ve triptamin diğer bileşikler için bir öncü görevi görür. Triptamin molekülüne yapılan ikameler, toplu olarak triptaminler olarak bilinen bir grup bileşiğe yol açar. En iyi bilinen triptaminler, önemli bir nörotransmitter olan serotonin ve uyku-uyanıklık döngüsünün

düzenlenmesinde yer alan bir hormon olan melatonindir. Triptamin, soğan familyasından sebzeler, aserola, Japon cevizi, muhallebi elmaları ve yeşil kabaklar gibi birkaç farklı gıdada tespit edilmiş ancak miktarı belirlenmemiştir [8].



Triptamin genel yapısı.



Triptamin metabolitine ait ayrılmış iyon kromatogramı.

## İlgili Linkler

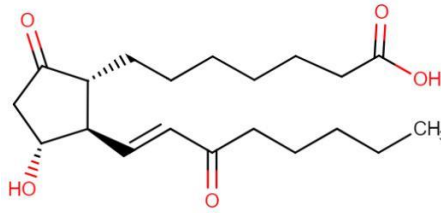
1. (R)-Salsolinol [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0005199>.
2. GlcCer(d18:1/18:0) [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0004972>.
3. Coumarin [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0001218>.
4. LysoPC(O-18:0/0:0) [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0011149>.
5. Pantetheine [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0003426>.
6. Pyroglutamic acid [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000267>.
7. Presqualene diphosphate [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0001278>.
8. Tryptamine [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000303>.



### EK-3: Hücre Kültürü Metabolomiğinde Eşleşme Sağlanan Metabolitlerin HMDB (İnsan Metabolom Veri Bankası) Bilgisi

#### (13E)-11a-hidroksi-9,15-dioksoprost-13-enoik asit

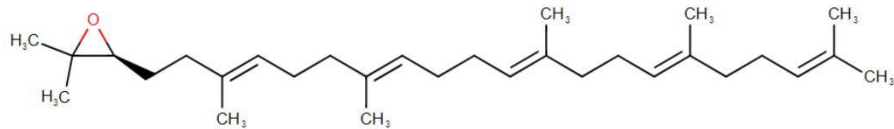
(13E)-11a-hidroksi-9,15-dioksoprost-13-enoik asit, Karbonil redüktaz 1 için bir substrattır [1].



(13E)-11a-Hidroksi-9,15-dioksoprost-13-enoik asit genel yapısı.

#### (S)-2,3-Epoksiskualen

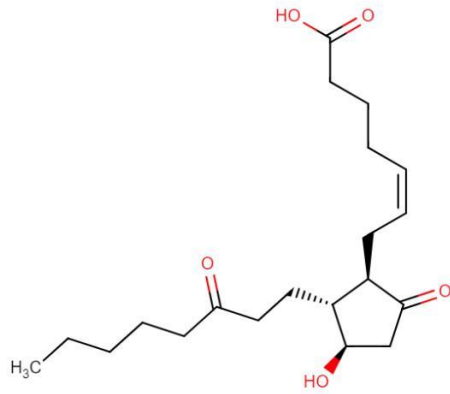
2,3-oksidoskualen veya (S)-skualen-2,3-epoksit olarak da bilinen (S)-2,3-Epoksiskualen, triterpenoidler olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir. (S)-2,3-epoksiskualen bir izoprenoid lipid molekülüdür. (S)-2,3-Epoksiskualen, terpenoidin biyosentezinde bir ara maddedir. Skualen monooksijenaz ve lanosterol sentaz için bir substrattır [2].



(S)-2,3-Epoksiskualen genel yapısı.

### 13,14-dihidro-15-keto-PGE2

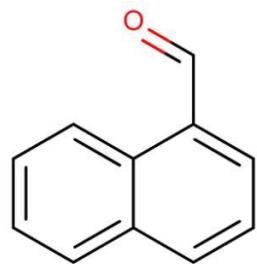
13,14-dihidro-15-keto-PGE2, prostaglandin E2 metabolitlerinden biridir. İn vitro insan fetal akciğeri, gebeliğin 12. haftası kadar erken bir dönemde kendini farklılaştırma yeterliliğine sahiptir ve fetal akciğerde inaktif metabolit 13,14-dihidro-15-keto-PGE2'nin PGE2'ye göre yüksek düzeylerinin varlığı, aktif prostaglandin katabolizmasının, PGE2 mevcudiyetini sınırlayarak in vivo olgunlaşmanın bu aşamasını geciktiren mekanizmalardan biridir [3].



13,14-dihidro-15-keto-PGE2 genel yapısı.

### 1-Naftaldehit

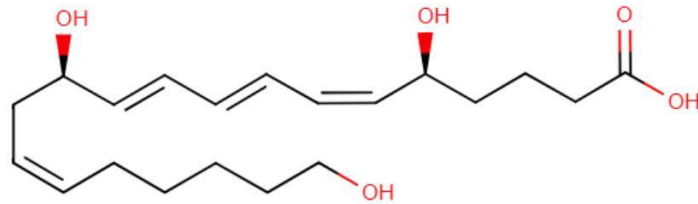
Alfa-naftal veya 1-formilnaftalin olarak da bilinen 1-Naftaldehit, naftalinler olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir. 1-Naftaldehit, bakterilerden insanlara kadar tüm canlı organizmalarda bulunur [4].



1-Naftaldehit genel yapısı.

## 20-hidroksi-Lökotrien B4

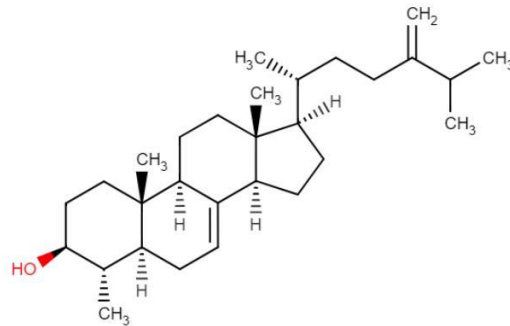
20-hidroksi- Lökotrien B4, insan nötrofillerinde lökotrien B4'ün omega-hidroksillenmiş bir metabolitidir. Lökotrien B4, nötrofil polimorfonükleer lökositlerdeki ana metabolittir. Lökotrienler, 5-lipoksijenazın etkisinden türetilen araşidonik asidin metabolitleridir. 5-lipoksijenazın ani ürünü, Lökotrien A4 hidrolaz tarafından enzimatik olarak lökotrien B4'e veya lökotrien C4 sentaz tarafından lökotrien C4'e dönüştürülen lökotrien A4'tür. Lökotrien üretiminin düzenlenmesi, 5-lipoksijenazın ekspresyonu, 5-lipoksijenazın perinükleer bölgeye translokasyonu ve 5-lipoksijenazın aktivitesini arttırmak veya inhibe etmek için fosforilasyon dahil olmak üzere çeşitli seviyelerde gerçekleşir. Biyolojik olarak aktif Lökotrien B4, spesifik sitokrom P450'ler tarafından gerçekleştirilen w-oksidasyonu ve ardından w-karboksi konumundan ve koenzimA ester oluşumundan sonra beta oksidasyonu ile metabolize edilir [5].



20-Hidroksi-Lökotrien B4 genel yapısı.

## 24-Metilenlofenol

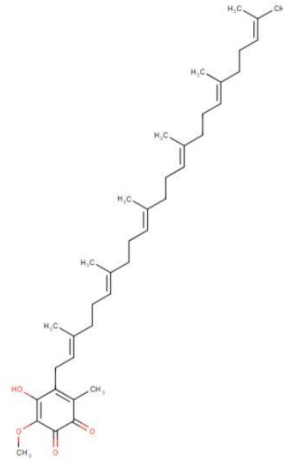
24alfa-metilepisterol veya gramisterin olarak da bilinen 4-Metilenlofenol, ergosteroller ve türevleri olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir. 24-metilenlofenol bir sterol lipit molekülü olarak kabul edilir [6].



24-Metilenlofenol genel yapısı.

## 2-Hekzaprenil-3-metil-5-hidroksi-6-metoksi-1,4-benzokinon

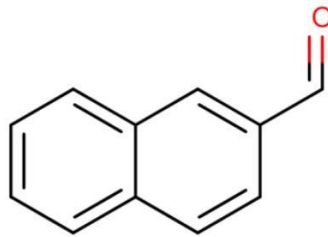
2-Hekzaprenil-3-metil-5-hidroksi-6-metoksi-1,4-benzokinon, ubikinon biyosentez yolunda rol oynar. 2-Hekzaprenil-3-metil-5-hidroksi-6-metoksi-1,4-benzokinon, ubikinon biyosentez monooksijenaz Coq2 tarafından 4-Hekzaprenil-7-metil-1-metoksi-14,13-benzokinondan oluşturulur [7].



2-Hekzaprenil-3-metil-5-hidroksi-6-metoksi-1,4-benzokinon genel yapısı.

## 2-Naftaldehit

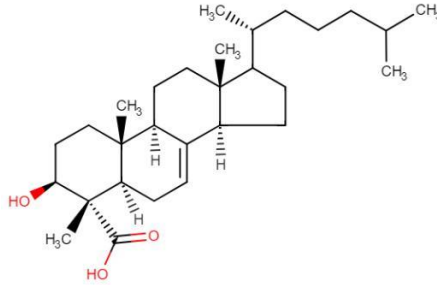
2-Formilnaftalin olarak da bilinen 2-Naftaldehit, naftalinler olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir. 2-Naftaldehit, bakterilerden insanlara kadar tüm canlı organizmalarda bulunur. Bunlar, iki benzen halkasının birleşmesiyle oluşan bir naftalin yapısı içeren bileşiklerdir [8].



2-Naftaldehit genel yapısı.

### 3-beta-Hidroksi-4-beta-metil-5-alfa-kolest-7-en-4-alfa-karboksilat

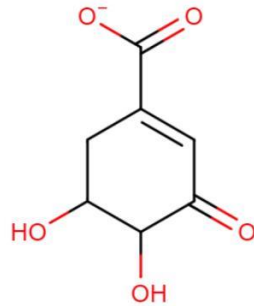
3-beta-Hidroksi-4-beta-metil-5-alfa-kolest-7-en-4-alfa-karboksilat, bir steroid biyosentez ara maddesidir. Ayrıca metilsterol hidroksilaz tarafından üretilir [9].



3-beta-Hidroksi-4-beta-metil-5-alfa-kolest-7-en-4-alfa-karboksilat genel yapısı.

### 3-Dehidroşikimat

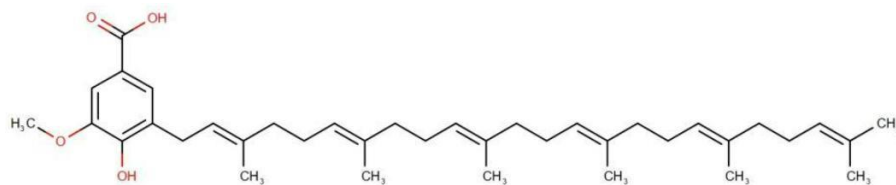
3-Dehidroşikimat, sikloheksenonlar olarak bilinen bileşikler sınıfının bir üyesidir. Sikloheksenonlar, bir keton taşıyan ve bir endosiklik çift bağa sahip altı üyeli alifatik bir halka olan bir sikloheksenon parçası içeren bileşiklerdir [10].



3-Dehidroşikimat genel yapısı.

### 3-Hekzaprenil-4-hidroksi-5-metoksibenzoik asit

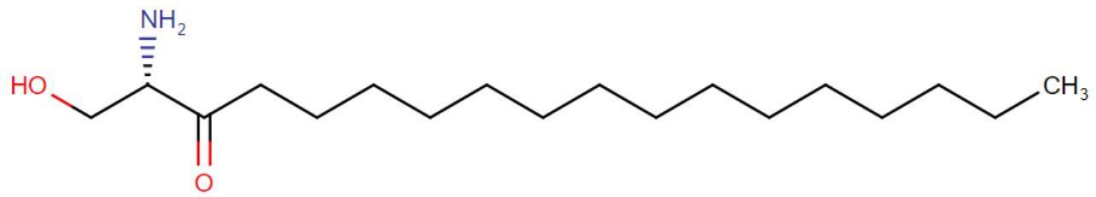
3-Hekzaprenil-4-hidroksi-5-metoksibenzoik asit, 2-poliprenil-6-metoksifenoller olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir. 2-poliprenil-6-metoksifenoller, 2-metoksifenol grubunun 6-pozisyonuna bağlı bir poliizopren zinciri içeren bileşiklerdir [11].



3-Hekzaprenil-4-hidroksi-5-metoksibenzoik asit genel yapısı.

### 3-Ketosfinganin

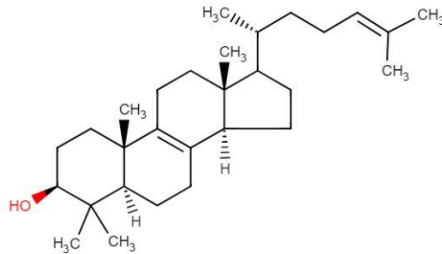
Ketodihidrosfingosin olarak da bilinen 3-Dehidrosfinganin, beta-hidroksi ketonlar olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir. 3-dehidrosfinganin, bir sfingoid bazlı lipid molekülü olarak kabul edilir. 3-Dehidrosfinganin, mayadan insanlara kadar tüm ökaryotlarda bulunur. 3-dehidrosfinganin ve karbon dioksit, serin palmitoiltransferaz 1 enziminin etkisiyle palmitil-CoA ve L-serinden biyosentezlenebilir. 3-Dehidrosfinganin, sfinganin'den biyosentezlenebilir [12].



3-Ketosfinganin genel yapısı.

### 4,4-Dimetil-5a-kolesta-8,24-dien-3-b-ol

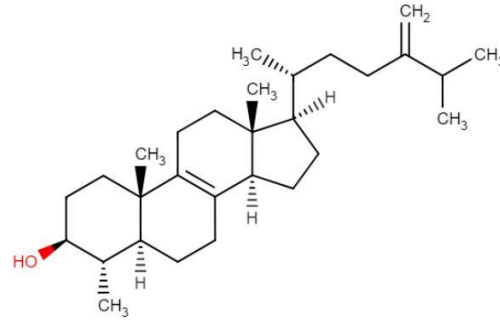
4,4-Dimetil-5a-kolesta-8,24-dien-3-b-ol (14-demetillanosterol), sterol biyosentezinde bir ara maddedir. Özellikle, lanosterolün zimosterole dönüştürülmesinde bir ara maddedir [13].



4,4-Dimetil-5a-kolesta-8,24-dien-3-b-ol genel yapısı.

### 4alfa-Metilfekosterol

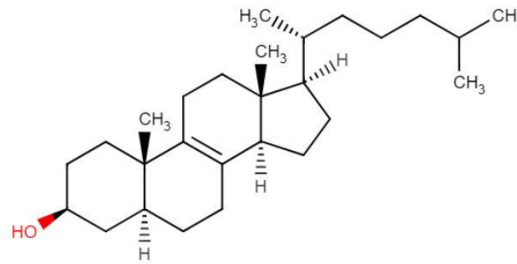
4alfa-Metilfekosterol, ergosteroller ve türevleri olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir. 4alfa-metilfekosterol bir sterol lipid molekülü olarak kabul edilir. 4alfa-Metilfekosterol steroidlerin biyosentezinde rol oynar [14].



4alfa-Metilfekosterol genel yapısı.

### 5alfa-Kolest-8-en-3beta-ol

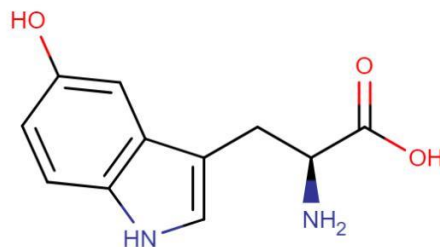
Zimostenol olarak da bilinen 5alfa-Cholest-8-en-3beta-ol, normal bir insan metaboliti ve kolesterol sentezinin bir ara maddesidir. Serebrotendinöz ksantomatozlu hastaların hem serum hem de safirasındaki zimostenol miktarları, kontrollere veya kenodeoksikolik asit ile tedavi edilen serebrotendinöz ksantomatozlu hastalara kıyasla daha yüksektir. Hiperkolesterolemik çocuklar tarafından yayılan bitki stanol esteri tüketimi sırasında, plazmadaki bitki sterollerini azalır ve zimostenol gibi kolesterol öncü sterollerini artırır [15].



5alfa-Kolest-8-en-3beta-ol genel yapısı,

## 5-Hidroksi-L-triptofan

5-Hidroksi-L-triptofan, esansiyel amino asit L-triptofandan vücut tarafından doğal olarak üretilen aromatik bir amino asittir. 5-Hidroksi-L-triptofan, nörotransmitter serotoninin öncüsüdür ve beyinde değişmiş serotonin seviyeleri birikebilir ve bu da anormal sinirsel sinyalleşmeye yol açar. Serotonine dönüşüm, monoamin nörotransmitterlerinin metabolizmasında önemli bir enzim olan aromatik L-amino asit dekarboksilaz enzimi tarafından katalize edilir. 5-Hidroksi-L-triptofan, kan-beyin bariyerini kolayca geçer ve serotoninin merkezi sinir sistemi sentezini etkili bir şekilde artırır. 5-hidroksi-L-triptofan ile takviyenin, antidepresan özellikleriyle ilişkili olduğu serotonin sentezini etkilemektedir. Yeterince yüksek seviyelerde mevcut olduğunda, 5-hidroksitriptofan bir nörotoksin ve metabotoksin olabilir. Bir nörotoksin, sinir hücrelerini veya dokularını bozan veya saldıran bir bileşiktir. Bir metabotoksin, kronik olarak yüksek seviyelerde olumsuz sağlık etkilerine neden olan endojen olarak üretilen bir metabolittir [16].

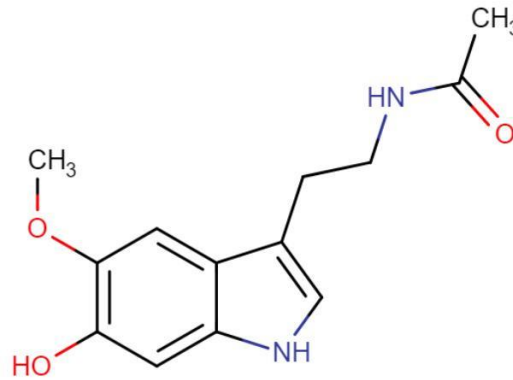


5-Hidroksi-L-triptofan genel yapısı.



## 6-Hidroksimelatonin

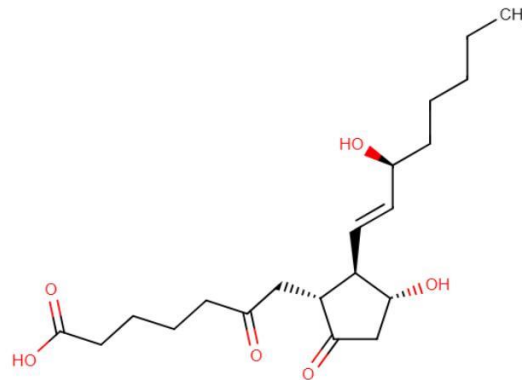
6-Hidroksimelatonin, hidroksiindoller olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir, 6-Hidroksimelatonin, insan karaciğer ve böbrek dokularında ve ayrıca idrar ve kan gibi biyolojik sıvılarda bulunur. Hücre içinde, 6-Hidroksimelatonin öncelikle sitoplazmada bulunur. 6-Hidroksimelatonin, sitokrom P450 (CYP) 1A2 enzimi ile etkileşimi yoluyla melatonininden sentezlenen ana primer metabolittir. İnsanlarda, 6-hidroksimelatonin triptofan metabolizmasında rol oynar [17].



6-Hidroksimelatonin genel yapısı.

## 6-Ketoprostaglandin E1

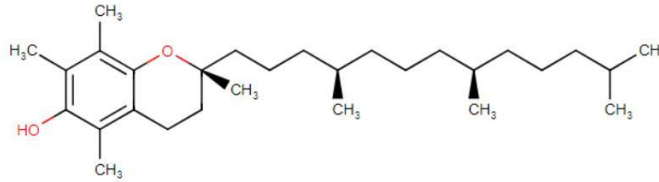
6-Ketoprotaglandin E1, biyolojik olarak aktif ve stabil bir prostasiklin metabolitidir ve Adenilat siklaz tip III için bir substrattır. 6-keto-prostaglandin E1 güçlü bir koroner vazodilatördür. Trombosit zarları seviyesinde, 6-keto-PGE1, PGI2 tarafından etiketlenen bağlanma bölgeleri ile etkileşime girer. Bununla birlikte, hem trombositlerde hem de mezenterik arter miyositlerinde, 6-keto-prostaglandin E1, bağlanma veya adenilat siklaz çalışmaları ile gösterilir [18].



6-Ketoprotaglandin E1 genel yapısı.

## alfa-Tokoferol

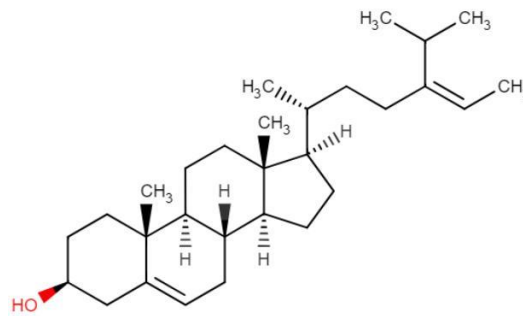
alfa-Tokoferol, insanlarda E vitamininin en aktif formudur ve güçlü bir biyolojik antioksidandır. Doğal E vitamini sekiz farklı formda veya izomerde bulunur. Bunlar dört tokoferol ve dört tokotrienoldür [19].



alfa-Tokoferol genel yapısı.

## Avenasterol (İzofücoesterol)

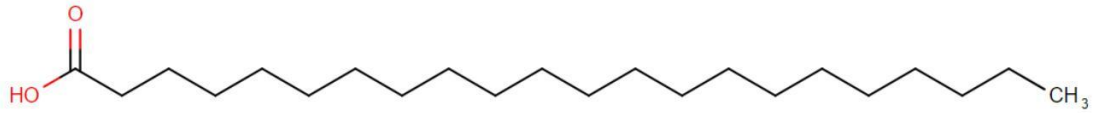
Delta5-avenasterol olarak da bilinen izofücoesterol, bir fitosteroldür. Fitosteroller veya bitki sterollerini, doğal olarak oluşan ve kolesterole yakın yapısal benzerlik gösteren, ancak farklı yan zincir konfigürasyonlarına sahip bileşiklerdir. Fitosteroller farmasötiklerle (terapötik steroidlerin üretimi), beslenmeyle (fonksiyonel gıdalarda anti-kolesterol katkı maddeleri, anti-kanser özellikleri) ve kozmetiklerle (kremler, ruj) ilgilidir. Fitosteroller, bitkisel yağlardan elde edilebilir. İzofücoesterol, kalıtsal bir metabolizma kusuru olan fitosterolemi ile ilişkili bulunmuştur [20].



Avenasterol genel yapısı.

## Behenik asit

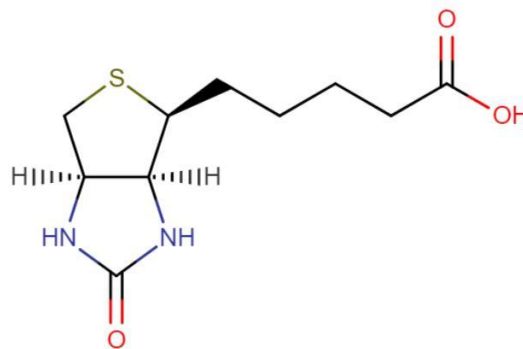
Behenik asit, aynı zamanda dokosanoik asit, bir karboksilik asittir ve  $C_{21}H_{43}COOH$  formülüne sahip bir yağ asididir. Behenik asit insan plasentasında tanımlanmıştır [21].



Behenik asit genel yapısı.

## Biyotin

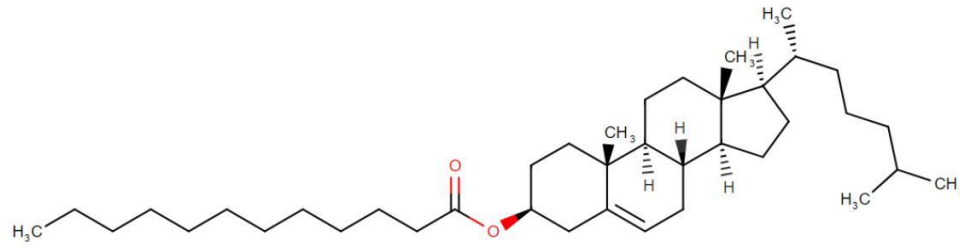
Biyotin, her canlı hücrede çok az miktarda bulunan bir enzim kofaktörüdür. Biyotin aynı zamanda koenzim R ve vitamin H veya B7 olarak da bilinir. Esas olarak proteinlere veya polipeptitlere bağlı olarak oluşur ve karaciğer, böbrek ve pankreasta bol miktarda bulunur. Biyotin eksikliği nörolojik belirtiler, deri döküntüsü, saç dökülmesi ve çeşitli karboksilaz eksiklikleri ile ilişkili olduğu düşünülen metabolik bozukluklara yol açar. Spesifik olarak, hücre sinyalleşmesi, gen ekspresyonu ve kromatin yapısında biyotin rol oynamaktadır. İnsan hücreleri biyotin biriktirir. Biyotinidaz ve holokarboksilaz sentetaz, biyotinin histonlara (DNA bağlayıcı proteinler) kovalent bağlanmasına aracılık ederek kromatin yapısını etkilemektedir. Histonların biyotiniyasyonunun, hücre çoğalmasında, gen susturulmasında ve DNA onarımına hücresel yanıtta rol oynadığı görülmektedir [22].



Biyotin genel yapısı.

## CE(12:0)

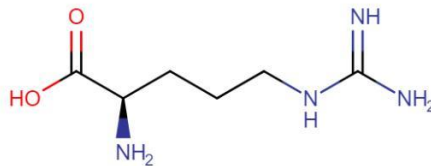
Kolesteril laurik asit bir kolesteril esterdir. Bir kolesteril ester, bir kolesterol esteridir. Kolesterolün yağ asidi esterleri, plazmadaki kolesterolün yaklaşık üçte ikisini oluşturur. Kolesterol, tüm vücut dokularının hücre zarlarında bulunan ve tüm hayvanların kan plazmasında taşınan bir sterol (bir kombinasyon steroid ve alkol) ve bir lipiddir. Arteriyel intimada (akan kanla doğrudan temas halinde olan bir arterin en içteki tabakası) kolesterol esterlerinin birikmesi aterosklerozun karakteristik bir özelliğidir. Ateroskleroz, arteriyel kan damarlarını etkileyen bir hastalıktır. Bu, büyük ölçüde lipoproteinlerin (kolesterol ve trigliseritleri taşıyan plazma proteinleri) birikmesine bağlı olarak, atardamar duvarlarında kronik bir inflamatuvar yanıtıdır. Laurik asit, toplam kolesterolü büyük ölçüde artırır, ancak etkisinin çoğu HDL kolesterol üzerindedir. Sonuç olarak laurik asitten zengin yağlar totalin HDL kolesterole oranını azaltır [23].



CE(12:0) genel yapısı.

## D-Arjinin

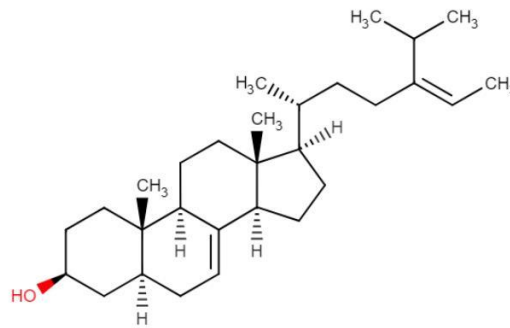
D-2-amino-5-guanidinovalerik asit veya (2R)-2-amino-5-guanidinopentanoat olarak da bilinen D-Arjinin, D-alfa-amino asitler olarak bilinen bileşikler sınıfının bir üyesidir. D-alfa-amino asitler, alfa-karbon atomunun D-konfigürasyonuna sahip alfa amino asitlerdir. D-Arjinin, insan epidermisinde ve trombosit dokularında bulunabilir. Nitrik oksit biyosentezinin öncüsüdür. D-Arjinin, L-formunda fizyolojik olarak aktif olan temel bir amino asittir [24].



D-Arjinin genel yapısı.

### Delta7-Avenasterol

7-Dehidroavenastrol veya 7Z-etilenelathosterol olarak da bilinen delta24-Avenasterol, stigmastanlar ve türevleri olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir. delta7-Avenasterol bir sterol lipid molekülü olarak kabul edilir. delta7-Avenasterol, bahçe soğanı, çemen, vaccinium (yaban mersini, kızılıcık, huckleberry), greyfurt / pummelo melezleri ve bakliyat gibi birkaç farklı gıda tespit edilmiş, ancak ölçülmemiştir. delta7-Avenasterol, steroidlerin biyosentezinde bir ara maddedir, Stigmasterol sentezinde dördüncü ila son adımdır ve 24-etilidenelofenolden dönüştürülür. Daha sonra latosterol oksidaz enzimi aracılığıyla 6-dehidroavenasterole dönüştürülür [25].



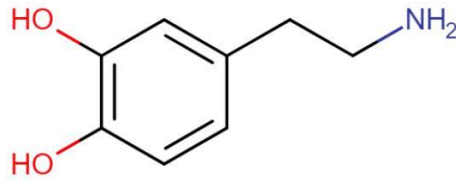
7-Dehidroavenastrol genel yapısı.

### Dopamin

Dopamin, beyindeki katekolamin nörotransmitterdir ve epinefrin (adrenalin) ve norepinefrin (noradrenalin) öncüsüdür. Dopamin, beyin ekstrapiramidal sisteminde önemli bir vericidir ve hareketin düzenlenmesinde önemlidir. Dopamin, kan damarlarında norepinefrin salınımını inhibe eder ve bir vazodilatatör görevi görür (normal derişimlerde); böbreklerde, sodyum atılımını ve idrar çıkışını artırır; pankreasta insülin üretimini azaltır; sindirim sisteminde gastrointestinal motiliteyi azaltır ve bağırsak mukozasını korur; ve bağışıklık sisteminde lenfositlerin aktivitesini azaltır.

Yeterince yüksek seviyelerde mevcut olduğunda, dopamin bir nörotoksin ve bir metabotoksin olabilir. Bir nörotoksin, nöral dokuyu bozan veya ona saldıran bir bileşiktir. Bir metabotoksin, kronik olarak yüksek seviyelerde olumsuz sağlık etkilerine neden olan, endojen olarak üretilen bir metabolittir. Kronik olarak yüksek

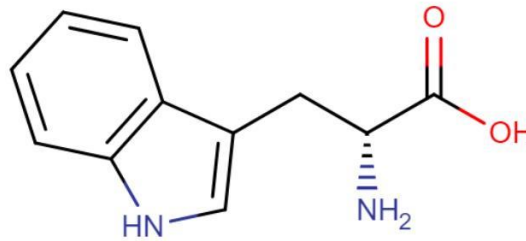
dopamin seviyeleri, nöroblastom, Costello sendromu, lösemi, feokromositoma, aromatik L-amino asit dekarboksilaz eksikliği ve Menkes hastalığı (MNK) ile ilişkilidir. Yüksek dopamin seviyeleri hiperaktiviteye, uykusuzluğa, ajitasyon ve kaygıya, depresyona, sanrılara, aşırı salivasyona, mide bulantısına ve sindirim sorunlarına yol açabilir [26].



Dopaminin genel yapısı.

### D-Triptofan

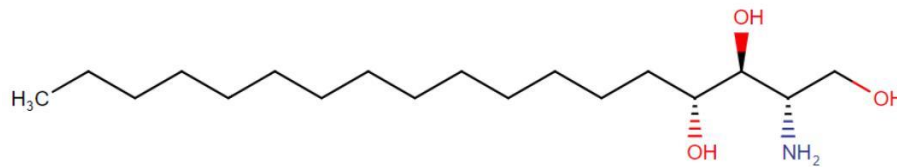
D-Triptofan, indolil karboksilik asitler ve türevleri olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir. D-Triptofan, bakterilerden bitkilere ve insanlara kadar tüm canlı türlerinde bulunur. D-Triptofan sekonder bir metabolittir [27].



D-Triptofan genel yapısı.

## Fitosfingosin

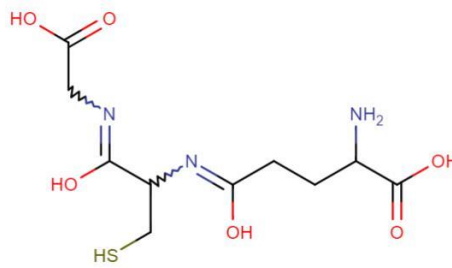
Fitosfingosin bir fosfolipiddir. Fosfolipidler, bir lipit sınıfıdır ve tüm biyolojik zarların ana bileşenidir; sfingosin ve seramid gibi sfingolipid metabolitleri, oldukça biyoaktif bileşiklerdir ve hücre-hücre etkileşimi, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptoz dahil olmak üzere çeşitli hücre süreçlerinde yer alır. Fitosfingosin ayrıca mantarlarda ve bitkilerde bol miktarda bulunan ve ayrıca insanlar dahil hayvanlarda bulunan, en yaygın dağıtılan doğal sfingoid bazlardan biridir. Fitosfingosin, insan T hücreli lenfoma ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücrelerinde apoptozu indükler ve mitokondriden kaspazdan bağımsız sitokrom c salınımını indükler. Kaspaz inhibitörlerinin varlığında, fitosfingosin kaynaklı apoptoz neredeyse tamamen bastırılır, bu da fitosfingosin kaynaklı apoptozun büyük ölçüde kaspaz aktivitelerine bağlıdır [28].



Fitosfingosin genel yapısı.

## Glutatyon

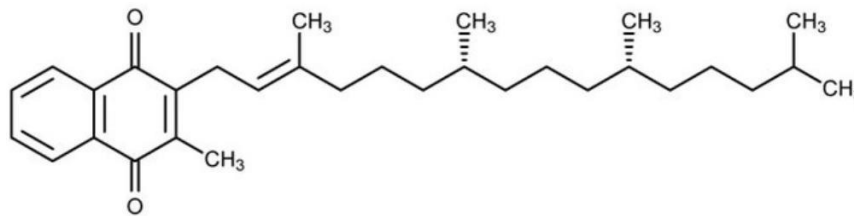
Gama-Glutamilsisteinilglisin, oligopeptitler olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir. Bunlar, peptit bağlarıyla birleştirilmiş üç ila on alfa-amino asit dizisi içeren organik bileşiklerdir [29].



Glutatyon genel yapısı.

## K1 Vitamini

Filokinon veya fitonadion olarak da bilinen K1 vitamini, 1-metil ve 4-fetil bulunduran 2,3-naftokinon yapıları polisiklik aromatik bir ketondur. K vitamininin çeşitli formları tanımlanmıştır. Bunlar, Bitkilerden elde edilen K1 vitamini; bakterilerden ve sentetik naftokinon provitaminlerinden K2 vitamini ve K3 vitamini. K1 vitamini, proksimal izopren birimi üzerinde sadece bir çift bağa sahiptir. K1 vitamini, aktif protrombin (faktör II), prokonvertin (faktör VII), plazma tromboplastin bileşeni (faktör IX) ve Stuart faktörünün (faktör X) karaciğer yoluyla üretimi için gerekli olan doğal olarak oluşan K vitamini ile aynı tip ve aktiviteye sahiptir. K1 vitamini antihemorajik ve protrombojenik aktiviteye sahiptir [30].



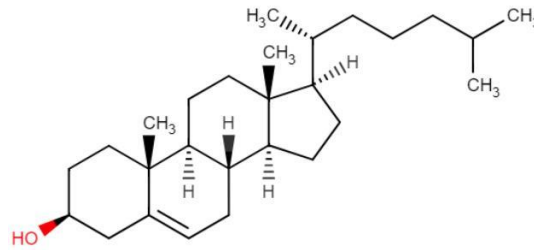
K1 Vitamini genel yapısı.

## Kolesterol

Kolesterol, tüm vücut dokularının hücre zarlarında bulunan ve tüm hayvanların kan plazmasında taşınan bir sterol ve bir lipiddir. Vücutta kolesterol, serbest formda veya kolesterol halkasının 3. pozisyonundaki hidroksil grubuna kovalent olarak bağlı tek bir yağ asidi ile bir ester olarak bulunabilir. Sentez mekanizması nedeniyle, plazma kolesterol esterleri nispeten yüksek oranlarda çoklu doymamış yağ asitleri içerir. Kolesterol, zarlarda ve genel olarak lipid metabolizmasında hayati yapısal rollere sahiptir. Safra asitleri, D vitamini ve steroid hormonlarının (glukokortikoidler, östrojenler, progesteronlar, androjenler ve aldosteron) biyosentetik öncüsüdür. Ayrıca merkezi sinir sisteminin gelişimine ve işleyişine katkı sağlar, sinyal iletimi ve sperm gelişiminde önemli görevleri vardır. Kolesterol molekülleri (yani kolesterol esterleri) vücutta lipoprotein partikülleri aracılığıyla taşınır. Karaciğerde şilomikron partikülleri trigliseritleri ve bir miktar kolesterolü verir. Daha sonra trigliseritleri ve kolesterolü diğer vücut hücrelerine taşıyan düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) parçacıklarına dönüştürülürler. Sağlıklı bireylerde, LDL partikülleri büyüktür ve sayıları nispeten azdır. Oksitlenmiş LDL



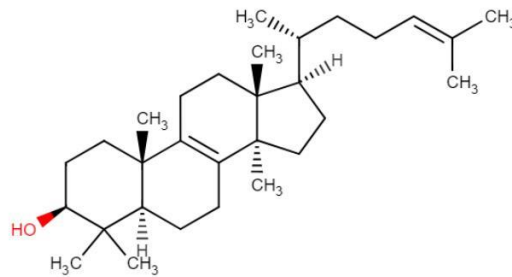
partiküllerinin, özellikle küçük LDL partiküllerinin yüksek derişimlerde olduğu koşullarda, kolesterol, koroner kalp hastalığı ve diğer kardiyovasküler hastalık formlarına önemli bir katkıda bulunan ateroskleroz olarak bilinen bir durum olan arter duvarlarında aterom plak birikimini teşvik eder. Kronik olarak yüksek kolesterol seviyeleri, serebrotendinöz ksantomatozis, kolesteril ester depo hastalığı, konjenital lipoid adrenal hiperplazi, hiperkolesterolemi ve Zellweger sendromu gibi kalıtsal metabolizma hastalıklarıyla ilişkilidir. Kronik olarak yüksek seviyelerde, kolesterol bir aterojen olarak işlev görebilir [31].



Kolesterol genel yapısı.

### Lanosterol

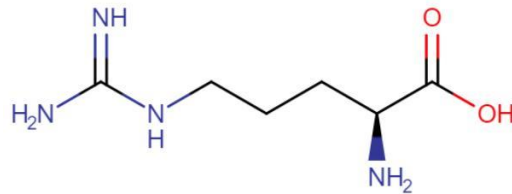
Lanosterin olarak da bilinen lanosterol, triterpenoidler olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir. Lanosterol, bir sterol lipid molekülüdür. Lanosterol, 3-hidroksi-3-metil-glutaril-KoA redüktaz yolu ile asetil-CoA'dan başlayarak biyokimyasal olarak sentezlenir. Asiklik terpen skualenin 2,3-skualen oksit yoluyla polisiklik lanosterole enzimatik dönüşümüdür [32].



Lanosterol genel yapısı.

## L-Arjinin

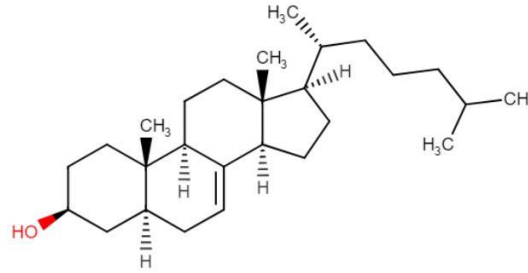
L-Arjinin, L-alfa-amino asitler olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir, Bunlar, alfa-karbon atomunun L-konfigürasyonuna sahip alfa amino asitlerdir. L-asparagin, 20 proteinojenik amino asitten biridir, yani proteinlerin biyosentezinde kullanılan amino asitlerdir. Arjinin, bakterilerden bitkilere ve hayvanlara kadar tüm organizmalarda bulunur. Arjinin, L-formunda fizyolojik olarak aktif olan temel bir amino asittir. Yetişkinler, üre döngüsünde arjinini sentezleyebilirler. L-Arjinin, amonyağın atılmasına yardımcı olur, nitrik oksit, kreatin, L-glutamat ve L-prolin gibi bileşiklerin yapımında kullanılır ve gerekirse glikoz ve glikojene dönüştürülebilir. Arjinin ayrıca hücre bölünmesi, bağışıklık ve yara iyileşmesinde önemli bir rol oynar. Arjinin, sekonder bir haberci olarak hareket edebilen önemli bir sinyal molekülü ve aynı zamanda damar genişlemesini düzenleyen hücreler arası bir haberci olan ve ayrıca bağışıklık sisteminin enfeksiyona tepkisinde işlevlere sahip olan nitrik oksidin (NO) öncüsüdür. Arjinin, kreatin sentezi için gereklidir ve poliaminlerin sentezi için kullanılabilir. Yüksek dozlarda L-arjinin ayrıca insan büyüme hormonu ve prolaktin dahil olmak üzere çeşitli hormonların salınımını uyarır. Arjinin ayrıca iskelet kası yağ asidi oksidasyonunu ve kas glikoz alımını uyaran AMP kinazı aktive eder, böylece pankreatik beta hücreleri tarafından insülin sekresyonunu artırır. Sepsis, yaralanma ve kanser gibi katabolik hastalık durumları, arjinin kullanımında normal vücut üretimini aşabilen bir artışa neden olarak arjinin tükenmesine yol açar [33].



L-Arjinin genel yapısı.

## Latosterol

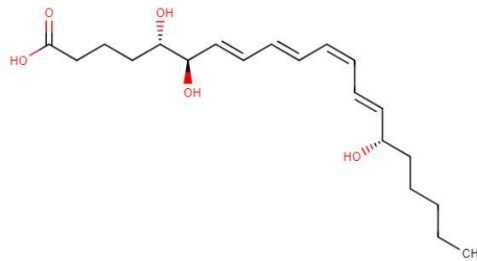
Latosterol, tüm vücut dokularının hücre zarlarında bulunan ve tüm hayvanların kan plazmasında taşınan bir sterol ve bir lipiddir. Tüm vücut kolesterol sentezinin bir göstergesi olarak kullanılır. Safra asidi malabsorpsiyonu olan hastalarda plazma lathosterol seviyeleri önemli ölçüde yükselir [34].



Latosterol genel yapısı.

## Lipoksin A4

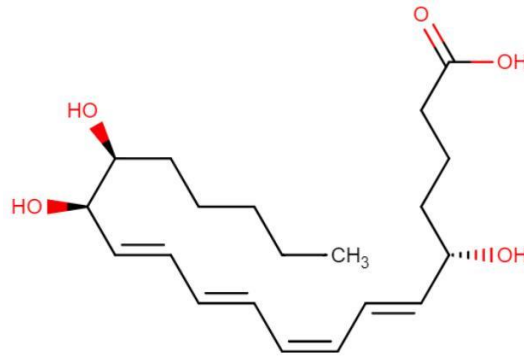
Lipoksin A4, aktive edilmiş lökositlerin 5-lipoksijenaz etkileşim ürünü olarak tanımlanmıştır. Lipoksin A4'ün endojen transselüler biyosentezi, lökositlerin epitel, endotel veya trombositlerle etkileşimi yoluyla gerçekleşir. Lipoksinler veya lipoksijenaz etkileşim ürünleri, spesifik trihidroksitetraen içeren eikosanoidler vermek için lipoksijenazların reaksiyonlar yoluyla araşidonik asitten üretilir. Bu yapılar, hücre-hücre etkileşimleri sırasında oluşur ve inflamatuvar yanıtlar sırasında üretilen diğer eikozanoidlerden hem zamansal hem de uzamsal olarak farklı bölgelerde hareket eder ve doğal rezolüyonu uyarır. Lipoksin A4 ve lipoksin B4, her biri güçlü hücre ve in vivo etkilerle sahip konumsal izomerlerdir. Aspirin, lipoksinin güçlü anti-enflamatuvar etkilerini paylaşan, aspirinle tetiklenen 15-epi-Lipoksin olarak adlandırılan Lipoksinin endojen epimerlerinin biyosentezini tetikleyerek LX devresinde doğrudan bir etkiye sahiptir [35].



Lipoksin A4 genel yapısı.

## Lipoksin B4

Lipoksinler ve aspirinle tetiklenen lipoksin, araşidonik asitten üretilen trihidroksitetraen içeren eikosanoidlerdir ve diğer birçok proinflamatuvar lipid türevi araçılardan yapı, oluşum ve fonksiyon bakımından farklıdır. Bu endojen eikosanoidler, enflamatuvar yanıtta yer alan birinci sınıf lipid/kimyasal araçıdır. Prostaglandinler ve lökotrienler dahil olmak üzere, araşidonik asitten türetilen eikozanoidlerin çoğu, immün hipersensitivite ve inflamasyonla ilgili çok çeşitli eylemler uygulayan yerel araçılar olarak önemli roller oynar. Aspirinin prostaglandinleri inhibe etmesine ek olarak, aspirin ayrıca siklooksijenaz-2'yi asetilleyerek, aspirinle tetiklenen Lipoksin A4 olarak adlandırılan 15-epimerik bir lipoksin formunun oluşumunu sağlar. Eşsiz bir trihidroksitetraen yapısına sahip bu eikosanoidler inflamasyonda 'durma sinyalleri' olarak işlev görür ve inflamasyonu sona erdirmek için konakçı yanıtlarının azaltılmasını sağlar [36].

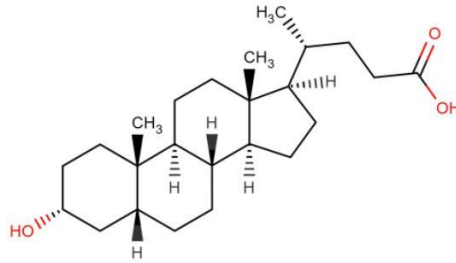


Lipoksin B4 genel yapısı.

## Litokolik asit

3alfa-hidroksi-5beta-kolan-24-oik asit olarak da bilinen litokolik asit, ikincil bir safra asididir. Emilim için yağları çözmek için bir deterjan görevi görür ve kendisi emilir. Kolagog ve koleretik olarak kullanılır. Safra asitleri, ağırlıklı olarak memelilerin safrasında bulunan steroid asitlerdir. Safra asitleri, yağların ve sterollerin bağırsakta ve karaciğerde atılımını, emilimini ve taşınmasını kolaylaştıran fizyolojik deterjanlardır. Safra asitleri ayrıca kolesterol katabolizmasından türetilen steroidal amfipatik moleküllerdir. Safra akışını ve lipid sekresyonunu modüle ederler, diyet yağlarının ve vitaminlerin emilimi için gereklidir ve kolesterol homeostazında yer alan tüm anahtar enzimlerin düzenlenmesinde rol oynarlar. Safra asitleri

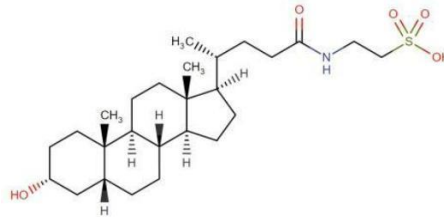
enterohepatik bir devre oluşturmak için karaciğer, safra kanalları, ince bağırsak ve portal vande yeniden dolaşır. Safra asitlerinin güçlü toksik özellikleri vardır (örneğin, zar bozulması) ve bunların kan ve dokularda birikmesini sınırlayan çok sayıda mekanizma vardır. Yeterince yüksek seviyelerde bulunduğu, litokolik asit bir onkometabolit görevi görebilir. Bir onkometabolit, kronik olarak yüksek seviyelerde bulunduğu tümör büyümesini ve hayatta kalmasını destekleyen bir bileşiktir. Kronik olarak yüksek litokolik asit seviyeleri, kolon kanseri, pankreas kanseri, özofagus kanseri ve diğer birçok GI kanseri dahil olmak üzere çeşitli kanser türleri ile ilişkilidir. Yüksek safra asidi seviyeleri, reaktif oksijen türlerinin ve reaktif nitrojen türlerinin oluşmasına, hücre zarı ve mitokondrinin bozulmasına, DNA hasarının indüklenmesine, mutasyona ve apoptosise ve kronik maruziyet üzerine azalmış apoptoz kapasitesinin gelişmesine yol açar [37].



Litokolik asit genel yapısı.

### Litokoliltaurin

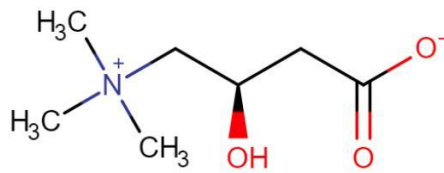
Litokoliltaurin, karaciğerde genellikle sodyum tuzu olarak taurin ile litokolik asit konjugasyonundan oluşan bir safra tuzudur. Emilim için yağları çözer ve kendisi emilir. Litokolat hem safra asidine bağımlı hem de bağımsız safra akışını azaltır. İnsanlarda, kronik kolestatik karaciğer hastalığı olan hastalarda yüksek seviyelerde litokolik asit bulunur. Litokoliltaurin, litokoliltaurin neden olduğu kolestazda doğrudan kanaliküler membranlar üzerinde etki ederek hem safra kanaliküler kasılmalarını hem de kanaliküler safra sekresyonunu bozar. Litokoliltaurin, safra tuzu dışı aktarma pompasının geri alınmasıyla ilişkili akut kolestazı indükler. Safra asitlerinin hepatik retansiyonu, hepatosit apoptozu ile karaciğer hasarına ve sonunda kolestatik karaciğer hastalıklarının kötüleşmesine yol açabilir [38].



Litokoliltaurin genel yapısı.

### L-Karnitin

Karnitin, esansiyel olmayan bir amino asit ve bir kuaterner amonyum bileşimidir. Karnitin ayrıca bir alkol olarak da sınıflandırılır. Karnitin, iki stereoizomerden (iki enantiyomer D-karnitin ve L-karnitin) biri olarak bulunur. Karnitin, lipid metabolizmasında ve beta-oksidasyonda önemli bir rol oynar. Metiyonin eksikliği, lizin eksikliği, C vitamini eksikliği veya böbrek diyalizi gibi belirli durumlarda karnitin eksikliği meydana gelebilir [39].

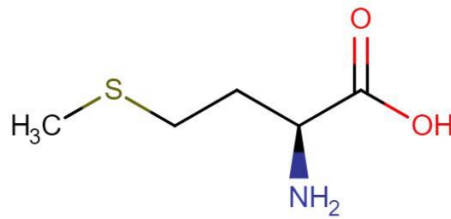


L-Karnitin genel yapısı.

### Metiyonin

L-metiyonin olarak da bilinen metiyonin, bir alfa-amino asittir. Bunlar, amino grubunun, karboksilat grubuna (alfa karbon) hemen bitişik karbon atomuna bağlandığı amino asitlerdir. Metiyonin, bakterilerden bitkilere ve hayvanlara kadar tüm organizmalarda bulunur. Metiyonin esansiyel bir amino asittir. İnsanların ve diğer memelilerin normal büyümesi ve gelişmesi için gereklidir. Protein sentezi için bir substrat olmasının yanı sıra, metiyonin, transmetilasyon reaksiyonlarında, DNA ve RNA ara ürünleri için metil grupları da dahil olmak üzere in vivo olarak ana metil grubu donörü olarak hizmet veren bir ara maddedir. Metiyonin, sistein için metabolik öncüdür. Sadece metiyoninden kükürt atomu sisteine aktarılır. Hastalıkta veya travma sonrasında, metiyonin, sistein ve taurin için gereksinimler değişebilir. Metiyoninin şizofreni hastalarında psikopatolojik semptomlarını şiddetlendirmektedir. Yüksek dozda metiyonin ölümle sonuçlanabilir. Yeterince

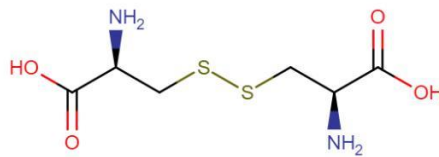
yüksek seviyelerde mevcut olduğunda, metiyonin bir aterojen ve bir metabotoksin gibi davranabilir. Bir aterojen, kronik olarak yüksek seviyelerde mevcut olduğunda ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalığa neden olan bir bileşiktir. Bir metabotoksin, kronik olarak yüksek seviyelerde olumsuz sağlık etkilerine neden olan endojen olarak üretilen bir metabolittir. Kronik olarak yüksek metiyonin seviyeleri, en az on doğuştan gelen metabolizma hatası ile ilişkilidir. Bu metabolik bozuklukları olan birçok birey, daha sonraki yaşamlarında kardiyovasküler hastalık geliştirme eğilimindedir [40].



Metiyonin genel yapısı.

### L-Sistin

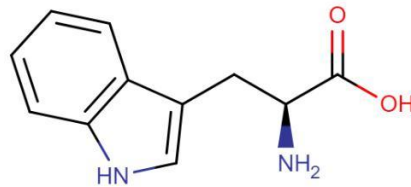
Sistin, oksitlenmiş dimerik bir sistein formudur. -SH grupları arasında bir disülfid bağı yoluyla iki sistein kalıntısının bağlanmasıyla oluşur. Sistin, sindirim enzimlerinde ve bağışıklık sistemi hücrelerinde, iskelet ve bağ dokularında, deride ve saçta yüksek derişimlerde bulunur. Sistin, bağışıklık sisteminde yer alan hücrelerde (örneğin makrofajlar ve astrositler) glutatyon sentezi için tercih edilen sistein şeklidir. Lenfositler ve nöronlarda, glutatyon üretimi için sistein kullanılmaktadır [41].



L-Sistin genel yapısı.

## L-Triptofan

L-triptofan bir alfa-amino asittir, L-triptofan, 20 proteinojenik amino asitten, yani proteinlerin biyosentezinde kullanılan amino asitlerden biridir. Triptofan, bakterilerden bitkilere ve hayvanlara kadar tüm organizmalarda bulunur. Triptofan hem serotonin hem de melatoninin öncüsüdür. Melatonin, hayvanlarda epifiz bezi tarafından üretilen, uyku ve uyanıklığı düzenleyen bir hormondur. Serotonin, vücuttaki organlarda bulunan bir beyin nörotransmitteri, trombosit pıhtılaşma faktörü ve nörohormondur. Triptofan eksikliğinin değerlendirilmesi, idrarda veya kanda triptofan metabolitlerinin atılımını inceleyerek yapılır. Triptofan, "ziyafet kaynaklı" uyuşuklukta rol oynar. Beyin omurilik sıvısına girdikten sonra, triptofan serotonine dönüştürülür ve elde edilen serotonin, uykuyu teşvik eden epifiz bezi tarafından melatonine metabolize edilir. Triptofan, daha sonra nörotransmitter serotonine dönüştürülen 5-hidroksitriptofan'a dönüştürüldüğü için, tüketiminin beyindeki serotonin seviyesini artırarak depresyon semptomlarını iyileştirebileceği öne sürülmüştür. Triptofan, Amerika Birleşik Devletleri'nde ve Birleşik Krallık'ta antidepresan, anksiyolitik ve uyku yardımcı olarak kullanılmak üzere bir gıda takviyesi olarak satılmaktadır. Ayrıca bazı Avrupa ülkelerinde majör depresyon tedavisi için reçeteli bir ilaç olarak pazarlanmaktadır. Bazı durumlarda, triptofan bir nörotoksin ve bir metabotoksin olabilir. Bir nörotoksin, beyin ve sinir dokularına zarar veren bir bileşiktir. Bir metabotoksin, kronik olarak yüksek seviyelerde olumsuz sağlık etkilerine neden olan endojen olarak üretilen bir metabolittir. Triptofan esas olarak İndoleamin-2,3-dioksigenaz-1 ve İndoleamin-2,3-dioksigenaz-2 enzimlerinin aktivitesi yoluyla katabolize edilir. Bu enzimler, triptofan katabolitleri üretir. Bu triptofan katabolitleri, bağışıklık regülasyonunda önemli bir rol oynayan aril hidrokarbon reseptörünü aktive eder. Bu enzimlerin rolü, enfeksiyöz organizmaları öldürmek veya büyümelerini yavaşlatmaktır. Öte yandan, aril hidrokarbon reseptörünü aktivasyonu bir immünosupresyon durumuna yol açar [42].

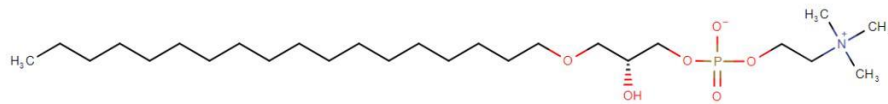


L-Triptofan genel yapısı.



### LysoPC(O-18:0/0:0)

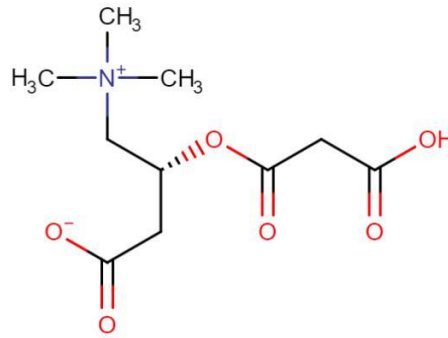
1-Oktadesil-sn-glisero-3-fosfokolin, eter lipid metabolizma yolundaki bir ara maddedir, 1-Oktadesil-sn-glisero-3-fosfokolin, bir eter fosfo-eter lipididir. Plazmalojenler, gliserol eter fosfolipitleridir. Lizofosfatidilkolinler, hücre içi kalsiyum mobilizasyonunu indükler ve farklı hücre sistemlerinde artan glikozla uyarılan insülin sekresyonuna yol açar. Kanda veya plazmada lizofosfatidilkolinler esas olarak albümine ve daha az ölçüde lipoproteinlere bağlanır. Enflamasyon, hücre hasarı ve diğer patofizyolojik durumlar, artan LPC üretimi veya azalan plazma albümin seviyeleri yoluyla serbest ve albümine bağlı LPC oranını değiştirebilir. Artmış ölüm riski ile ilişkili oldukları romatoid artrit, diyabet, şizofreni, polikistik over sendromu, Alzheimer hastalığı, pulmoner arteriyel hipertansiyon, yaşlanma, astım ve karaciğer sirozu dahil olmak üzere sepsisin ötesinde bir dizi başka enflamatuvar durumda lizofosfatidilkolin seviyelerinde azalma gözlemlenmiştir. Lizofosfatidilkolinlerin bir dizi koruyucu veya anti-enflamatuvar etkisi vardır. Daha yüksek lizofosfatidilkolin seviyeleri, endotelial hücrelerde siklooksijenaz-2 ve endotelial nitrik oksit sentaz ekspresyonunu indükler, bunların her ikisi de prostasiklin veya nitrik üretimi yoluyla vazoprotektif etkilere sahip olabilir. Lizofosfatidilkolinlerin doğuştan gelen bağışıklık sistemi üzerinde bir dizi etki ortaya çıkarmaktadır ve etkili bir de çift aktiviteli ligand molekülleri olarak hizmet etmektedirler [43].



LysoPC(O-18:0/0:0) genel yapısı.

### Malonilkarnitin

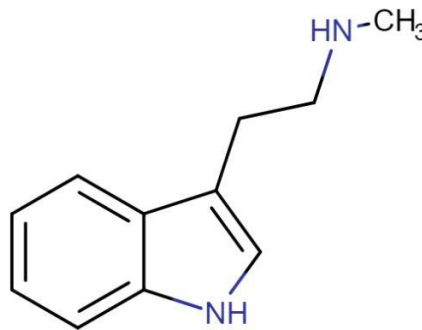
Malonilkarnitin, uzun zincirli açilkarnitin esterlerinin mitokondriye bozulmuş girişinin ve mitokondriyal solunum zincirinin kompleks 11'deki başarısızlığının ve malonil-CoA dekarboksilaz eksikliğinin neden olduğu yağ asidi oksidasyonunun spesifik olarak bozulmasıyla biriken bir metabolittir. Orta zincirli asil-koenzimA dehidrogenaz eksikliği olan bazı yenidoğanlarda da malonilkarnitin biriktiği bulunmuştur [44].



Malonilkarnitin genel yapısı.

### N-Metiltriptamin

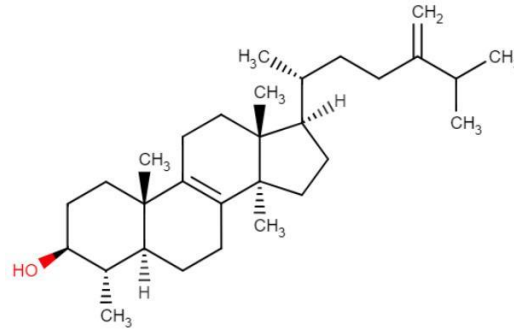
N-Metiltriptamin, triptaminler ve türevleri olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir. Triptaminler ve türevleri, yapısal olarak 3 konumunda bir etanamin ile ikame edilmiş bir indol halkası ile karakterize edilen triptamin omurgasını içeren bileşiklerdir. İnsanlarda, N-metiltriptamin, triptofan metabolizma yolunda yer alır. N-Metiltriptamin primer bir metabolittir [45].



N-Metiltriptamin genel yapısı.

## Obtusifoliol

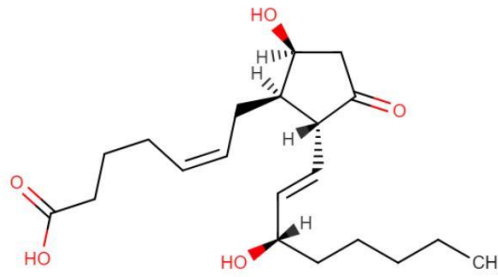
Obtusifoliol, ergosteroller ve türevleri olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir. Obtusifoliol bir sterol lipit molekülüdür. Obtusifoliol, Sitokrom P51A1 enzimi tarafından katalize edilen kolesterolün biyosentezinde bir ara maddedir. Sitokrom P51A1, kolesterol biyosentezinde önemli bir adım olan memelilerin yaşayabilirliği için gerekli olan bir temizlik enzimidir [46].



Obtusifoliol genel yapısı.

## Prostaglandin D2

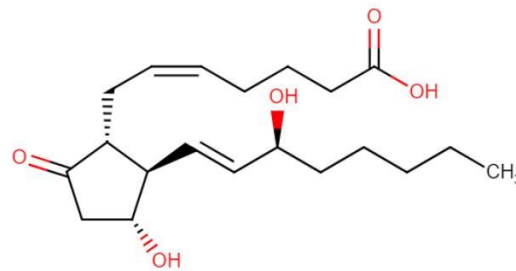
Prostaglandin D2; beyin, dalak, timus, kemik iliği, uterus, yumurtalık, yumurta kanalı, testis, prostat ve epididim gibi çeşitli organlarda aktif olarak üretilen ve birçok fizyolojik olayda yer alan bir prostaglandindir. Prostaglandin D2 uykuyu destekler; merkezi sinir sisteminde vücut ısısını, koku alma fonksiyonunu, hormon salınımını ve nosisepsiyonu düzenler; trombosit agregasyonunu önler; ve vazodilatasyon ve bronkokonstriksiyona neden olur. Prostaglandin D2 ayrıca mast hücrelerinden alerjik ve enflamatuar bir aracı olarak salınır [47].



Prostaglandin D2 genel yapısı.

## Prostaglandin E2

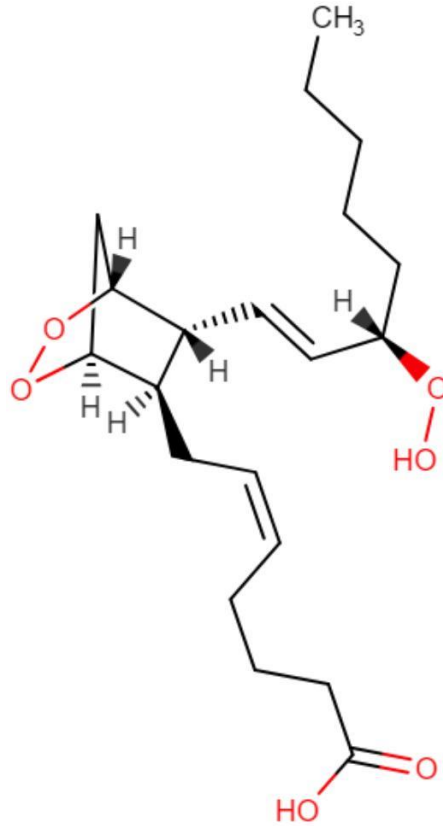
Doğal olarak oluşan prostaglandin E2 dinoproston olarak bilinir ve memeli prostaglandinleri arasında en yaygın ve biyolojik olarak en aktif olanıdır. Doğum sırasında önemli etkileri vardır ve ayrıca osteoblastları, osteoklastlar (kemik mineralize matrisini çıkararak kemik dokusunu ortadan kaldıran bir tür kemik hücresi) tarafından kemik emilimini uyaran faktörleri serbest bırakması için uyarır. PGE2 aynı zamanda ateşi indükleyen prostaglandindir. Prostaglandin E2'nin vazodilatasyonu ve cAMP üretimini arttırdığı, bradikinin ve histaminin etkilerini arttırdığı ve uterus kasılmalarını ve trombosit agregasyonunu indüklediği gösterilmiştir. PGE2 aynı zamanda fetal duktus arteriyozusun açık geçiş yolunun korunmasından, T-hücre proliferasyonunu ve lenfosit migrasyonunu azaltmaktan ve IL-1 $\alpha$  ve IL-2 sekresyonunu aktive etmekten de sorumludur. Prostaglandin E2, özellikle dendritik hücreler üzerinde hem pro- hem de anti-inflamatuvar etkiler sergiler. Prostaglandin E2, dendritik hücrelerinin olgunlaşmasını ve antijen sunma yeteneklerini azaltan bir inhibitör etki gösterir. Prostaglandin E2'nin ayrıca tümör nekroz faktörü-alfa ile kombinasyon halinde verildiğinde dendritik hücreyi uyardığı ve IL-12 üretimini desteklediği de gösterilmiştir. Farklılaşma, olgunlaşma ve sitokin salgılama yeteneklerine etki ederek profesyonel dendritik hücrenin aktivitelerini modüle eder [48].



Prostaglandin E2 genel yapısı.

## Prostaglandin G2

Prostaglandin G2, ilk olarak bir siklooksijenaz metabolik yolunda araşidonik asitten sentezlenir; prostaglandinin COX biyosentezi, 11R konfigürasyonunda araşidonik asidin oldukça spesifik oksijenasyonu ile başlar ve Prostaglandin G2'yi oluşturmak için 15S oksijenasyonu ile sona erer. Araşidonik asidin Prostaglandin G2'ye dönüşümünü katalize eden COX bölgesi aktivitesi, nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar için hedefdir, Peroksidaz bölgesi aktivitesi, karşılık gelen alkol prostaglandin H2'yi vermek üzere Prostaglandin G2'nin hidroperoksit bağının iki elektronlu indirgenmesini katalize eder [49].

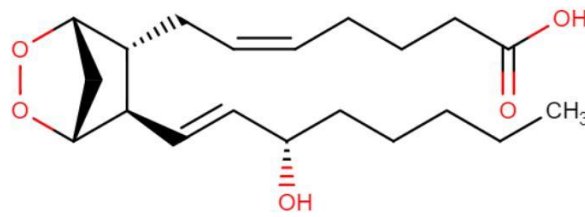


Prostaglandin G2 genel yapısı.

## Prostaglandin H2

Prostaglandin H2, tüm prostaglandinlerin biyosentezinde ilk ara maddedir. Prostaglandinler, Prostaglandin H sentaz 1 ve 2 olarak da adlandırılan enzimler tarafından araşidonik asitten sentezlenir. Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların çoğu hem Prostaglandin H sentaz 1 hem de 2'yi inhibe eder. Prostaglandinler

eikosanoidlerdir. Eikosanoidlerin transsellüler biyosentez için önemli özelliklerden biri, Prostaglandin H2 veya Lökotrien A4'ün donör hücreden ihraç edilmesi ve bu reaktif ara ürünlerin alıcı hücre tarafından alınmasıdır. Trombositler endojen araşidonik asitten tromboksan A2 oluşturduğunda, Prostaglandin H2, Tromboksan A2'ninkine çok benzer ve güçlü trombosit aktivasyonu üretecek kadar yüksek derişimlere ulaşır. Bu nedenle, Tromboksan A2 ile trombosit aktivasyonu, Prostaglandin H2 tarafından yapılan bir aktivasyon ile birlikte gitmektedir [50].

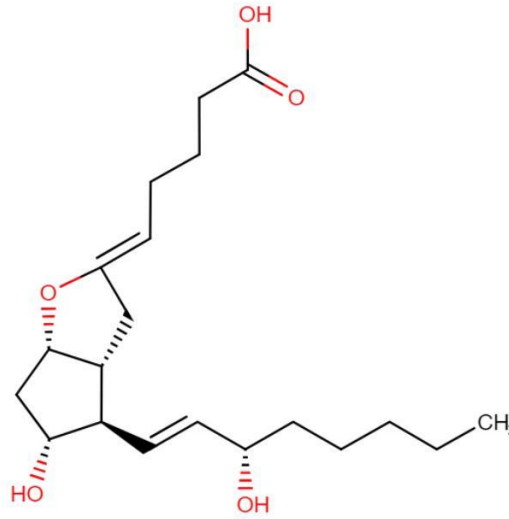


Prostaglandin H2 genel yapısı.

### Prostaglandin I2

Prostaglandin I2, eikosanoidler olarak bilinen lipid molekülleri ailesinin bir üyesidir. Prostasiklin sentaz enziminin etkisiyle prostaglandin H2'den endotel hücrelerinde üretilir. Güçlü bir vazodilatatördür ve trombosit agregasyonunu inhibe eder. Prostaglandin I2, kan damarı duvarı tarafından sentezlenen ana prostaglandindir. Bu, trombosit aracılı trombozun sınırlandırılmasında önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Özellikle prostasiklin, primer hemostazda (kan pıhtısı oluşumunun bir parçası) yer alan trombosit tıkaçının oluşumunu esas olarak önler. Prostasiklin, sağlıklı endotel hücreleri tarafından salgınır ve işlevini, yakındaki trombositler ve endotel hücreleri üzerindeki G proteinine bağlı reseptörleri içeren bir parakrin sinyal kaskadı yoluyla gerçekleştirir. Trombosit Gs proteinine bağlı reseptör (prostasiklin reseptörü), Prostaglandin I2'ye bağlandığında aktive olur, Bu aktivasyon, sırayla, adenilil siklaza cAMP üretmesi için sinyal verir. cAMP, herhangi bir aşırı trombosit aktivasyonunu inhibe etmeye devam eder (dolaşımı teşvik etmek için) ve ayrıca tromboksan A2 bağlanmasından sonuçlanabilecek sitosolik kalsiyum seviyelerindeki herhangi bir artışa karşı koyar. PGI2 ayrıca endotel prostasiklin reseptörlerine bağlanır ve aynı de sitozoldeki cAMP seviyelerini yükseltir. Bu cAMP daha sonra protein kinaz A'yı aktive etmeye devam eder, P protein kinaz A daha

sonra düz kas gevşemesine ve vazodilatasyona yol açan miyozin hafif zincir kinazını inhibe ederek kaskadı devam ettirir [51].

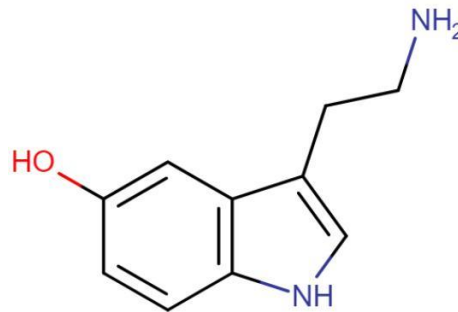


Prostaglandin I2 genel yapısı.

## Serotonin

Serotonin veya 5-hidroksitriptamin, indoleaminler olarak bilinen bileşiklerin sınıfına ait bir moleküldür. Serotonin, bakterilerden bitkilere ve insanlara kadar tüm canlı organizmalarda bulunur. Memelilerde, serotonin bir monoamin nörotransmitteri, biyokimyasal bir haberci ve düzenleyici olarak işlev görür. Esansiyel amino asit L-Triptofan'dan sentezlenir. Sinir sistemindeki serotonin, sinapslarda yerel bir verici olarak ve difüzyon üzerine devrelerin bir parakrin veya hormonal modülatörü olarak hareket ederek, farklı uyarılara karşı çok çeşitli "duruma bağlı" davranışsal tepkilere izin verir. Serotonin, omurgalıların ve omurgasızların sinir sisteminde davranışsal etkileri bulunmaktadır. Daha geniş ve çok daha sofistike bir davranış repertuarı sergileyen omurgalılarda, serotonin ayrıca uyku, uyarılma durumunu, cinsel davranışı ve diğerlerini de düzenler. Serotonerjik sistem eksiklikleri depresyon, obsesif-kompulsif bozukluk, fobiler, travma sonrası stres bozukluğu, epilepsi ve yaygın anksiyete bozukluğu gibi bozukluklara neden olur. Serotoninin sinir sisteminde üç farklı etki modu vardır; birinci etkisi verici olarak, sinaptik butonlarda lokal olarak hareket eder; ikinci etkisi salınım bölgelerinden uzakta difüzyon üzerine, parakrin etkiler üretir ve son olarak kan

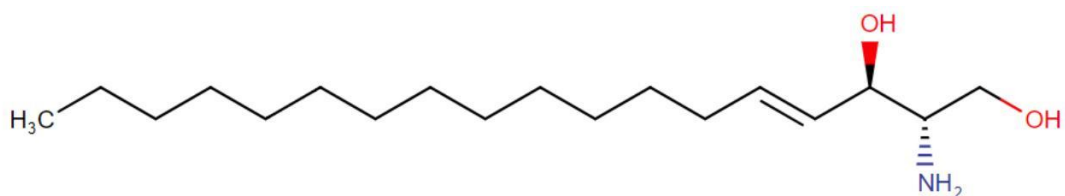
dolaşımında dolaşarak hormonal etkiler üretir. Üç etki tek bir nöronal devreyi etkileyebilir [52].



Serotonin genel yapısı.

### Sfingosin

(4E)-sfingenin veya sfing-4-enin olarak da bilinen sfingosin, 1,2-aminoalkoller olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir. Sfingosin, sfingolipidlerin birincil parçasını oluşturan, doymamış bir hidrokarbon zincirine sahip 18 karbonlu bir amino alkoldür. Sfingolipidler, sfingomyelin içeren bir hücre zarı lipidleri sınıfıdır. Bu nedenle, sfingosin, bir sfingoid bazlı lipid olarak kabul edilir. Sfingosin, bakterilerden bitkilere ve insanlara kadar tüm canlı organizmalarda bulunur. Sfingosin, dehidrosfingosin elde etmek için gereken bir yoğunlaştırmada palmitoil CoA ve serinden sentezlenir. Dehidrosfingosin daha sonra NADPH tarafından dihidrosfingosine (sfinganin) indirgenir ve son olarak FAD tarafından sfingosine oksitlenir. İnsanlarda ve diğer memelilerde sfingosin, bir dizi enzimatik reaksiyona katılır. Özellikle sfingosin, sfingosin kinaz 2 enzimi ile etkileşimi yoluyla sfingosin 1-fosfata dönüştürülebilir. Sfingosin 1-fosfat önemli bir sinyal molekülüdür. Ayrıca sfingosin, sfingosin 1-fosfattan biyosentezlenebilir; sfingosin-1-fosfat fosfataz 2 enziminin aracılık ettiği sfingosin ve türevi sfinganin, memelilerdeki sfingolipidlerin ana bazlarıdır. İnsanlarda sfingosin, globoid hücre lökodistrofisinde yer alır [53].

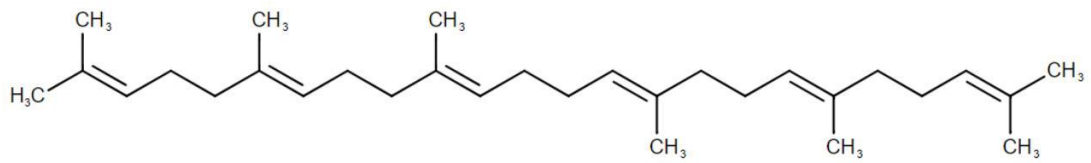


Sfingosin genel yapısı.



## Skualen

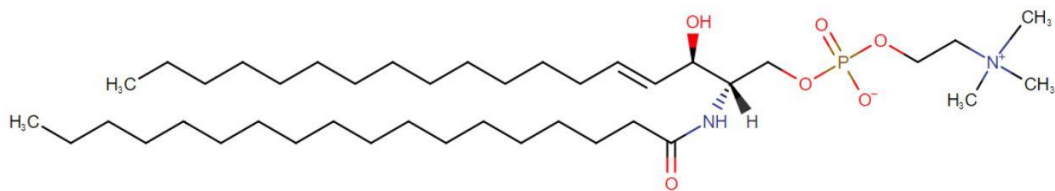
Skualen, insan sebumunda (%5), ve birçok bitkisel yağda bulunan altı konjuge edilmemiş çift bağa sahip doymamış bir alifatik hidrokarbondur (karotenoid). Tüm gelişmiş organizmalar, insanlar da dahil olmak üzere skualen üretir. Skualen, tüm steroid ailesinin biyokimyasal bir öncüsüdür. Skualenin terminal çift bağlarından birinin oksidasyonu, daha sonra kolesterol ve diğer steroidlere detaylandırılan lanosterolün karşılanması için enzim katalizörlü siklizasyonu ile 2,3-skualen oksit verir. Farmasötiklerin üretiminde kullanılan bir ara maddedir [54].



Skulen genel yapısı.

## SM(d18:1/18:0)

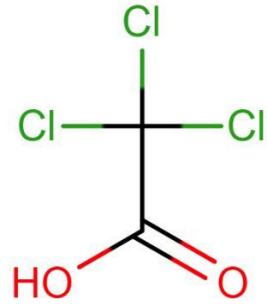
Sfngomiyelin (d18:1/18:0) veya SM(d18:1/18:0), hayvan hücre zarlarında, özellikle de bazı sinir hücresi aksonlarını çevreleyen membranöz miyelin kılıfında bulunan bir sfngolipid türüdür. Genellikle fosforilkolin ve seramidden oluşur. SM (d18: 1 / 18: 0) bir sfngosin omurgasından ve bir stearik asit zincirinden oluşur. İnsanlarda, sfngomiyelin, gliserolden türetilmeyen tek membran fosfolipitidir. Tüm sfngolipidler gibi, SM de bir seramid çekirdeğine sahiptir. Ek olarak, fosfokolin veya fosfoetanolamin olan bir polar grubu içerir. Hücrelerin plazma zarı sfngomiyelin bakımından oldukça zengindir ve büyük ölçüde hücre zarının ekzoplazmik kısmında bulunmaktadır. Bununla birlikte, membranın iç kısmında bir sfngomiyelin havuzu vardır. SM'ler sinyal iletiminde rol oynar. Sfngomiyelinler, sfngomiyelin sentaz tarafından katalize edilen bir reaksiyonda fosforilkolinin fosfatidilkolinden bir seramide aktarılmasıyla sentezlenir [55].



SM(d18:1/18:0) genel yapısı.

### **Triklorasetik asit**

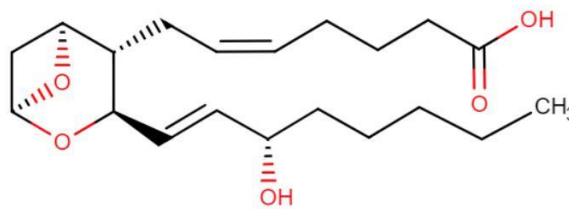
Trikloroasetat olarak da bilinen trikloroasetik asit, alfa-halokarboksilik asitler olarak bilinen organik bileşikler sınıfına aittir. Trikloroasetik asit, bakterilerden insanlara kadar tüm canlı organizmalarda bulunur, Trikloroasetik asit resmi olarak olası bir kanserojen olarak derecelendirilir ve ayrıca potansiyel olarak toksik bir bileşiktir [56].



Trikloroasetik asit genel yapısı.

### **Tromboksan A2**

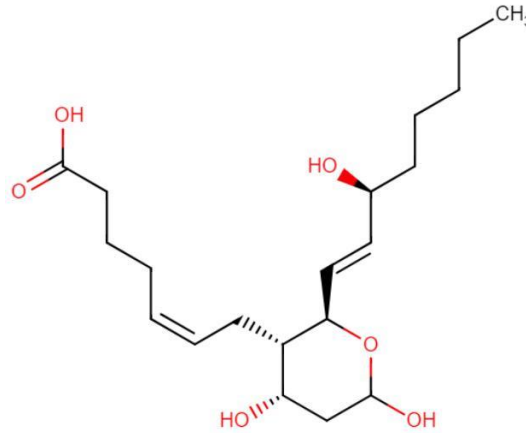
Tromboksan A2, prostaglandin endoperoksitler ve tromboksan B2 arasında kararsız bir ara maddedir. Trombosit agregasyonunun güçlü bir indükleyicisidir ve vazokonstriksiyona neden olur. Tromboksanlar eikosanoidlerdir, Eritrositler hariç tüm memeli hücreleri eikosanoidleri sentezler. Bu moleküller son derece güçlüdür, çok seyreltik derişimlerde derin fizyolojik etkilere neden olabilirler. Tüm eikosanoidler, reseptör aracılı G-proteinine bağlı sinyal yolları aracılığıyla sentez bölgesinde lokal olarak işlev görür [57].



Tromboksan A2 genel yapısı.

## Tromboksan B2

Tromboksanlar, prostaglandin endoperoksitlerinden in vivo olarak oluşan stabil, fizyolojik olarak aktif bir bileşiklerdir. Trombosit salınım reaksiyonunda (ADP ve serotonin salınımı) önemlidir. Tromboksanlar eikosanoidlerdir. Eikosanoidler prostaglandinler; tromboksanlar, lökotrienler ve lipoksinlerden oluşur. Prostaglandinler ve lipoksinler toplu olarak prostanooidler olarak tanımlanır. Prostaglandinlerin başlangıçta prostat bezinde, trombositlerden tromboksanların ve lökositlerden lökotrienlerin sentezlenmesi nedeniyle isimleri türetilmiştir. Eritrositler hariç tüm memeli hücreleri eikosanoidleri sentezler. Bu moleküller son derece güçlüdür, çok seyreltik derişimlerde derin fizyolojik etkilere neden olabilirler. Tüm eikosanoidler, reseptör aracılı G-proteinine bağlı sinyal yolları aracılığıyla sentez bölgesinde lokal olarak işlev görür [58].

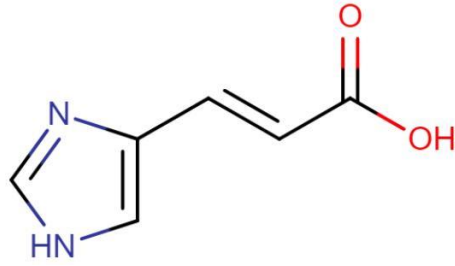


Tromboksan B2 genel yapısı.

## Ürokanik asit

Ürokanik asit, histidinin bir parçalanma ürünüdür. Karaciğerde, ürokanik asit, histidinin glutamik aside dönüştürülmesinde bir ara maddedir, epidermiste birikir ve hem Ultraviyole koruyucu hem de immünoregülatördür. Ürokanik asit, cildin stratum korneum tabakasında trans izomer olarak bulunur. Trans-ürokanik asit, cildin ikinci tabakasının hücrelerinin metabolik olarak inaktif hale gelmesiyle oluşur. Trans-ürokanik asit, aylık cilt yenileme döngüsü veya ter ile atılana kadar epidermiste birikir, UV ışığının emilimi üzerine, doğal olarak oluşan trans-ürokanik asit, cis-ürokanik asite izomerleşir. Alt epidermisteki DNA lezyonları (örneğin, pirimidin dimerleri) UV-B emiliminden kaynaklanabileceğinden trans-ürokanik asitin, zararlı

ışınlar alt epidermal bölgelere nüfuz etmeden önce stratum korneumda UV-B'yi emen doğal bir güneş kremi olarak hareket etmektedir, cis-ürokanik asit ayrıca temas aşırı duyarlılığı ve gecikmiş aşırı duyarlılığı baskılar, epidermisteki Langerhans hücre sayısını azaltır, cilt grefti sağkalım süresini uzattır ve doğal öldürücü hücre aktivitesini etkiler [59].



Ürokanik asit genel yapısı.

## İlgili Linkler

1. (13E)-11a-Hydroxy-9,15-dioxoprost-13-enoic acid [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0001320>.
2. (S)-2,3-Epoxysqualene [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0001188>.
3. 13,14-Dihydro-15-keto-PGE2 [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0002776>.
4. 1-Naphthaldehyde [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0060325>.
5. 20-Hydroxy-leukotriene B4 [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0001509>.
6. 24-Methylenelophenol [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0006846>.
7. 2-Hexaprenyl-3-methyl-5-hydroxy-6-methoxy-1,4-benzoquinone [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0006820>.
8. 2-Naphthaldehyde [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0060349>.
9. 3-beta-Hydroxy-4-beta-methyl-5-alpha-cholest-7-ene-4-alpha-carboxylate [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0011662>.
10. 3-dehydroshikimate [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0304122>.
11. 3-Hexaprenyl-4-hydroxy-5-methoxybenzoic acid [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000977>.
12. 3-Dehydrosphinganine [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0001480>.
13. 4,4-Dimetil-5a-kolesta-8,24-dien-3-b-ol [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0001286>.
14. 4alpha-Methylfecosterol [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0006845>.
15. 5alpha-Cholest-8-en-3beta-ol [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0006841>.
16. 5-Hydroxy-L-tryptophan [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000472>.
17. 6-Hydroxymelatonin [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0004081>.

18. 6-Ketoprostaglandin E1 [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0004241>.
19. alpha-Tocopherol [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0001893>.
20. Isofucosterol [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0002374>.
21. Behenic acid [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000944>.
22. Biotin [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000030>.
23. CE(12:0) [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0002262>.
24. D-Arginine [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0003416>.
25. delta7-Avenasterol [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0006851>.
26. Dopamine [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000073>.
27. D-Tryptophan [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0013609>.
28. Phytosphingosine [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0004610>.
29. Glutathionate(1-) [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0062697>.
30. Vitamin K1 [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0003555>.
31. Cholesterol [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000067>.
32. Lanosterol [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0001251>.
33. L-Arginine [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000517>.
34. Lathosterol [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0001170>.
35. Lipoxin A4 [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0004385>.
36. Lipoxin B4 [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0005082>.

37. Lithocholic acid [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000761>.
38. Lithocholytaurine [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000722>.
39. L-Carnitine [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000062>.
40. Methionine [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000696>.
41. L-Cystine [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000192>.
42. L-Tryptophan [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000929>.
43. LysoPC(O-18:0/0:0) [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0011149>.
44. Malonylcarnitine [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0002095>.
45. N-Methyltryptamine [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0004370>.
46. Obtusifoliol [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0001242>.
47. Prostaglandin D2 [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0001403>.
48. Prostaglandin E2 [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0001220>.
49. Prostaglandin G2 [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0003235>.
50. Prostaglandin H2 [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0001381>.
51. Prostaglandin I2 [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0001335>.
52. Serotonin [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000259>.
53. Sphingosine [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000252>.
54. Squalene [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000256>.
55. SM(d18:1/18:0) [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0001348>.

56. Trichloroacetic acid [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0042048>.
57. Thromboxane A2 [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0001452>.
58. Thromboxane B2 [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0003252>.
59. Urocanic acid [Internet]. [Erişim Tarihi 20 Temmuz 2023] Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000301>.



## EK-4: Turnitin Ekran Görüntüsü

### MOMORDICA CHARANTIA L. EKSTRELERİNİN İÇERİĞİNİN VE MELANOMA KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN METABOLOMİK ÇALIŞMALARLA İNCELENMESİ

#### ORJİNALLİK RAPORU

<b>%8</b>	<b>%7</b>	<b>%1</b>	<b>%3</b>
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

#### BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<b>openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</b> İnternet Kaynağı	<b>%1</b>
<b>2</b>	<b>acikbilim.yok.gov.tr</b> İnternet Kaynağı	<b>%1</b>
<b>3</b>	<b>www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</b> İnternet Kaynağı	<b>%1</b>
<b>4</b>	<b>Submitted to Suleyman Demirel University</b> Öğrenci Ödevi	<b>&lt;%1</b>
<b>5</b>	<b>www.researchgate.net</b> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>
<b>6</b>	<b>Submitted to Kastamonu University</b> Öğrenci Ödevi	<b>&lt;%1</b>
<b>7</b>	<b>dspace.kocaeli.edu.tr:8080</b> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>
<b>8</b>	<b>Submitted to The Scientific &amp; Technological Research Council of Turkey (TUBITAK)</b> Öğrenci Ödevi	<b>&lt;%1</b>

**EK-5: Turnitin Dijital Makbuz****Dijital Makbuz**

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Duygu Eneş  
Ödev başlığı: MOMORDICA CHARANTIA L. EKSTRELERİNİN İÇERİĞİNİN VE ...  
Gönderi Başlığı: MOMORDICA CHARANTIA L. EKSTRELERİNİN İÇERİĞİNİN VE ...  
Dosya adı: Duygu\_Ene\_YL\_TEZ\_TRNTN.docx  
Dosya boyutu: 4.83M  
Sayfa sayısı: 120  
Kelime sayısı: 22,239  
Karakter sayısı: 156,406  
Gönderim Tarihi: 28-Ağu-2023 01:38ÖS (UTC+0300)  
Gönderim Numarası: 2152681891

Y.E.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOMORDICA CHARANTIA L. EKSTRELERİNİN  
İÇERİĞİNİN VE MELANOMA KANSER HÜCRELERİ  
ÜZERİNE ETKİNİNİN METABOLOMİK  
ÇALIŞIMLARLA İNCELENMESİ

Yrd. Doç. Dr. ENEŞ

Genetik Kimya Programı  
YANAK ULUSAL TEZİ

ANKARA  
2023

## 9. ÖZGEÇMİŞ

