

Centaurea lycaonica Boiss. & Heldr. Bitkisinin İnsan Servikal Kansere Hücre Hattında Sitotoksitesinin MTT Testi ve xCELLigence Sistemi ile Değerlendirilmesi

Ayşe Kübra-KARABOĞA ARSLAN¹, Eylül-GÜNGÖRENLER², Leyla-PAŞAYEVA³, Nuh Mehmet-BOZKURT⁴, Osman TUGAY⁵

¹Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri ²Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Kayseri ³Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognosi Ana Bilim Dalı, Kayseri ⁴Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri, ⁵Selçuk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Ana Bilim Dalı, Konya

¹<https://orcid.org/0000-0002-4689-0657>, ²<https://orcid.org/0009-0008-4009-268X>, ³<https://orcid.org/0000-0003-3860-7222>

⁴<https://orcid.org/0000-0003-2965-6719>, ⁵<https://orcid.org/0000-0003-3980-7648>

✉: aysekubra@erciyes.edu.tr

ÖZET

Centaurea L. cinsine ait birçok tür, dünyanın çeşitli bölgelerinde endemik olarak varlığını sürdürmekte ve halk hekimliğinde kullanımlarıyla literatürde yerini almaktadır. Söz konusu cinsin bazı türlerinin servikal kanser hücre hattı üzerindeki sitotoksitesini incelenmiştir. Bu çalışmada Türkiye'ye endemik ve hakkında yok denecek kadar az sayıda çalışma bulunan *Centaurea lycaonica* türünün kök kısmından hareketle, 24 saat maserasyon yöntemiyle hazırlanmış diklorometan (CRD) ve metanol (CRM) ekstraktlarının 48 saatlik maruziyette insan servikal kanser hücre hattındaki (HeLa) sitotoksik etkisinin araştırılması amaçlandı. Bitki ekstrelerinden hazırlanan farklı konsantrasyonların hücre canlılığına etkisi çalışma prensipleri farklı olan MTT ve xCELLigence GZHA sistemi kullanılarak araştırıldı ve IC₅₀ değerleri belirlendi. Sonuç olarak, CRD ve CRM ekstraktlarının MTT bulguları, xCELLigence analiziyle tutarlı olup HeLa hücrelerinde sitotoksik etkiye sahip olduğu bulundu. *C. lycaonica* türünün kanser tedavisinde yeni bir doğal kaynak olarak değerlendirilebileceği düşünüldü. Bu çalışmanın, Türkiye'ye endemik birçok türün biyolojik aktivite ve etki mekanizmalarının aydınlatılmasını teşvik edeceği düşünülmektedir.

Moleküler Biyoloji

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 05.06.2024

Kabul Tarihi : 31.12.2024

Anahtar Kelimeler

Centaurea lycaonica

Servikal kanser

HeLa

MTT

xCELLigence

Evaluation of Cytotoxicity of *Centaurea lycaonica* Boiss. & Heldr. Plant on Human Cervical Cancer Cell Line with MTT Test and xCELLigence System

ABSTRACT

Many species belonging to the genus *Centaurea* L. are endemic in various parts of the world and are used in folk medicine. The cytotoxicity of some species belonging to this genus on cervical cancer cell lines was investigated. In this study, it was aimed to investigate the cytotoxic effect of dichloromethane (CRD) and methanol (CRM) extracts prepared by 24 h maceration method on human cervical cancer cell line (HeLa) at 48 h exposure based on the root part of *Centaurea lycaonica*, which is endemic to Turkey and about which there are almost no studies. The effect of different concentrations of plant extracts on cell viability was investigated using MTT and xCELLigence RTCA systems, which have different working principles, and IC₅₀ values were determined. As a result, MTT findings of CRD and CRM extracts were consistent with xCELLigence analysis and found to have a cytotoxic effect on HeLa cells. It was thought that *C. lycaonica* species could be evaluated as a new natural source in cancer treatment. It is thought that this study will encourage the elucidation of the biological activities and mechanisms of action of many species endemic to Turkey.

Molecular Biology

Research Article

Article History

Received : 05.06.2024

Accepted : 31.12.2024

Keywords

Centaurea lycaonica

Cervical cancer

HeLa

MTT

xCELLigence

To Cite: Karaboğa-Arslan, A.K., Güngörenler, E., Paşayeva, L., Bozkurt, M.N., & Tugay, O (2025). Evaluation of Cytotoxicity of *Centaurea lycaonica* Boiss. & Heldr. Plant on Human Cervical Cancer Cell Line with MTT Test and xCELLigence System. *KSU J. Agric Nat* 28 (1), 47-52. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.1496499

GİRİŞ

Jinekolojik kanserler arasında önemli bir yere sahip olan serviks kanseri, yıllık 604.127 yeni vaka ve 341.831 ölümlü Dünya'da kadınlar arasında en sık görülen dördüncü kanser türü olmuştur (Sung ve ark., 2020; Rajaram ve ark., 2021). Serviks kanseri; karsinogen türdeki insan papilloma virüsü (HPV) enfeksiyonları, serviks displazisi, geçirilen doğum sayısı, genetik faktörler, metabolik bozukluklar, ilk cinsel ilişki yaşı, çok partnerli cinsel yaşam tarzının benimsenmiş olması gibi birçok faktöre bağlı olarak gelişmektedir. Çoğu gelişmiş ülkede insidansı azaltmak amacıyla bireylere cinsel sağlık eğitimleri verilmekle beraber kapsamlı tarama testleri, etkin tanı yöntemleri ve tedavi stratejileri geliştirilmiştir. Buna karşın sağlık kaynaklarının sınırlı olduğu ve mevcut tedavi seçeneklerinin dahi karşılanamaz olduğu düşük ve orta gelirli ülkelerde, rahim ağzı kanseri ciddi bir halk sorunu olmaya devam etmektedir. Bu nedenlerle küresel anlamda yük oluşturan serviks kanserine karşı etkili tedavi yolu geliştirilmesi için çalışmalar devam etmektedir (Brown ve ark., 2012; Shaikh ve ark., 2023).

Kanserin seyrine göre ihtiyaç duyulan tedavi stratejisi belirlenerek cerrahi, radyoterapi ve kemoterapiden biri veya bunların bir kombinasyonu uygulanmaktadır. Çoğu zaman bu tedavi seçenekleri ağır yan etkilere sebep olmakta ve hastanın hayatta kalma şansını azaltmaktadır (Saklani & Kutty, 2008). Kemoterapi ilaçlarının dozlarını düşürmeye yarayacak bitkisel kaynaklardan elde edilen biyoaktif maddeler ve kemoterapötiklerden oluşan; doksorubisin ve resveratrol (Xu ve ark., 2017), sisplatin ve epigallokateşin gallat (Yuan ve ark., 2017), paklitaksel ve naringin (Jabri ve ark., 2019), doksorubisin ve rein (Wu ve ark., 2019), dosetaksel ve kersetin (Lu ve ark., 2020) gibi kombinasyonlar ve paklitaksel, dosetaksel, vinkristin, vinblastin gibi doğal bileşiklerin başlı başına bir antikanser ilaç olarak varlığını gösterdiği örnekler, araştırmacıları doğal kaynaklardan ilaç aday moleküllerin keşfine yönlendirmiştir (Saklani & Kutty, 2008).

Yaklaşık 1600 cins ve 22000 tür ile Asteraceae, çiçekli bitki familyalarının en büyüğüdür. Etnobotanik çalışmalar sonucu terapötik etki görebilmek adına birçok türü halk arasında kullanılmaktadır (Lopes ve ark., 2021). Yapılan bir etnobotanik çalışmada, antikanser etkili 41 tür incelenmiş ve en çok üye ile listede bulunan ikinci botanik familyanın Asteraceae olduğu saptanmıştır (Gras ve ark., 2022). Asteraceae familyasının üyesi olan *Centaurea* L. cinsi, birçok türü ile dünyada geniş bir dağılım göstermektedir. *Centaurea*'nın bazı türleri halk arasında soğuk algınlığı, gastrointestinal sistem rahatsızlıkları, jinekolojik problemler ve daha birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Khammar & Djeddi, 2012; Fattaheian-Dehkordi ve ark., 2021). *Centaurea* türlerinin halk arasında kullanılmasını sağlayan yaygın etkilerinin, bitkinin içeriğindeki seskiterpen laktonlar, lignan bileşikleri ve flavonoidler gibi sekonder metabolitlerden kaynaklandığı düşünülmektedir (Koç ve ark., 2015).

Literatürde farklı *Centaurea* türlerine ilişkin çalışmalar (Kısa ve ark, 2024; Keser ve ark, 2020) bulunmasına rağmen türlerin kanser üzerindeki etkileri konusunda çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışma ile Türkiye'ye endemik ve bilindiği kadarıyla henüz sitotoksik etkisi araştırılmamış *Centaurea lycaonica* Boiss. & Heldr. türünün kök kısmından hareketle hazırlanmış diklorometan (CRD) ve metanol (CRM) ekstraktlarının insan serviks kanser hücre hattı olan HeLa'da sitotoksik etkisi incelendi.

MATERYAL ve METOD

Bitkinin Toplanması ve Ekstrelerin Hazırlanışı

Türkiye'nin İç Anadolu Bölgesi'nde endemik olarak yetişen *C. lycaonica* türü, Konya-Seydişehir civarında bitkinin botanik özellikleri ve habitatına ait değerlendirmeler (Davis, 1970) yardımıyla 2022 yılının Temmuz ayında Prof. Dr. Osman TUGAY tarafından tanımlandı. Türe ait kök kısımları toplanarak gölgeli ve havalandırılmış ortamda kurutuldu. Kurutulmuş bitki materyali uygun şekilde öğütüldü ve kaba toz haline getirildi. Bitkisel materyalden 24 sa. maserasyon yöntemiyle önce diklorometan ekstresi (CRD), daha sonra kalan bitki üzerinden metanol ekstresi (CRM) hazırlandı (Artun & Karagöz 2021). Maserasyon yöntemi sayesinde çözücüler, bekletme süresi boyunca bitki materyaliyle temasında sitotoksik etkiden sorumlu olan aktif bileşenleri çözünmüş halde içerir hale getirildi. Ekstreler elde edildikten sonra süzgeç kâğıdı yardımıyla süzüldü. Süzüntü çözücüsü, rotavaporda 38°C'de düşük basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu. Elde edilen konsantre, liyofilize edilerek çalışma anına kadar stabilitesi bozulmadan +4°C'de kuru halde saklandı.

Hücre Kültürü Çalışmaları

Çalışmada, HeLa (ATCC® CRM-CCL-2) hücre hattı kullanıldı. Hücreler, hücre kültürü laboratuvarında, 37°C'de %5 CO₂'li ortamda çoğaltılarak, hücre kültüründe %10 Fetal sıgır serumu (FBS), 100 IU ml penisilin/streptomisin çözeltisi içeren Dulbecco'nun modifiye edilmiş eagle besiyeri (DMEM) ile muamele edildi.

Hücre Canlılığının Ölçülmesi

CRD ve CRM ekstralarının potansiyel sitotoksitesini end-point bir testle ve gerçek zamanlı ortaya koymak ve IC₅₀ değerlerini belirlemek için hücre canlılığındaki değişim sırasıyla MTT ve xCELLigence gerçek zamanlı hücre analizi gerçekleştirildi.

3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-Difeniltetrazolyum Bromit (MTT) Yöntemi

Potansiyel sitotoksik etkisi araştırılan CRD ve CRM'nin, HeLa hücreleri üzerindeki etkisini göstermek ve IC₅₀ değerlerini belirlemek amacıyla MTT testi uygulandı. Testin esası, mitokondrilerde bulunan dehidrogenazların aktivitesi nedeniyle, proliferen olan hücrelerin sarı renkteki MTT tuzunu suda çözünmeyen mavi formazan kristallerine indirgenmesine dayanmaktadır. Meydana gelen renk değişimi absorbans ölçümü ile değerlendirilmektedir. Formazan kristalleri, ekim ortamında çözünemediğinden indirgenme ürünlerini çözmek için dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılmaktadır (Mosmann, 1983). HeLa hücrelerinin 1 x 10⁴ hücre/plaka ekimi sağlandı ve 24 sa. inkübasyona bırakıldı. Pozitif kontrol olarak doksorubisin (1.00 µM) IC₅₀ konsantrasyonunda (Delgado Waldo ve ark., 2023), kontrol grubu, belirlenen CRD konsantrasyonları (10, 30, 100, 180, 200, 300 µg ml⁻¹) ve CRM konsantrasyonları (10, 30, 100, 180, 200, 300 µg ml⁻¹) uygulandı. Hücreler 48 sa. boyunca ekstralarla muamele edildi. Sürecin sonunda 0.5 mg/ml/kuyu olacak şekilde MTT çözeltisi eklendi ve 2 sa. muamele edildi. Formazan kristallerinin çözülmesi için DMSO eklendi ve çalkalayıcı üzerinde 1-2 dak. bekletildi. Mikroplaka okuyucu ile 570 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı. Ekstre uygulanan kuyucuklardan elde edilen absorbans değerleri, kontrolün (%100) absorbans değerine göre oranlandı ve hücre canlılığı yüzde olarak ifade edildi.

Gerçek Zamanlı Hücre Canlılık Deneyi

xCELLigence Gerçek Zamanlı Hücre Analizi (GZHA) SP (Tek Plaka) ACEA Biosciences sistemi, gerçek zamanlı olarak hücre canlılığını boya veya başka bir kimyasal kullanmadan elektrik sinyalleri ile ölçen bir cihazdır. Cihaz; 96 kuyulu e-plaka, %5'lik CO₂ inkübatörü içinde bulunan bir istasyona sahip analizör ve CO₂ inkübatörünün dışında bulunan yazılım kontrol ünitesi bileşenlerinden oluşmaktadır. Sistemden e-plakaya sabit bir şekilde elektrik akımı gönderilir ve kuyucukların tabanında bulunan altın elektronik sensörler yardımıyla adherent hücrelerin elektrik akımına karşı gösterdiği direnç (empedans) analiz edilir. Hücre bağlanması ve yayılması nedeniyle empedansta gözlenen değişiklikler hücre indeksi (CI) olarak ifade edilir. Dolayısı ile empedans ölçümü; hücrelerin sayısı, canlılığı, morfolojisi ve hareketi gibi hücresel parametrelerin değişimi hakkında kalitatif ve kantitatif bilgi sunar (Oberg ve ark., 2020).

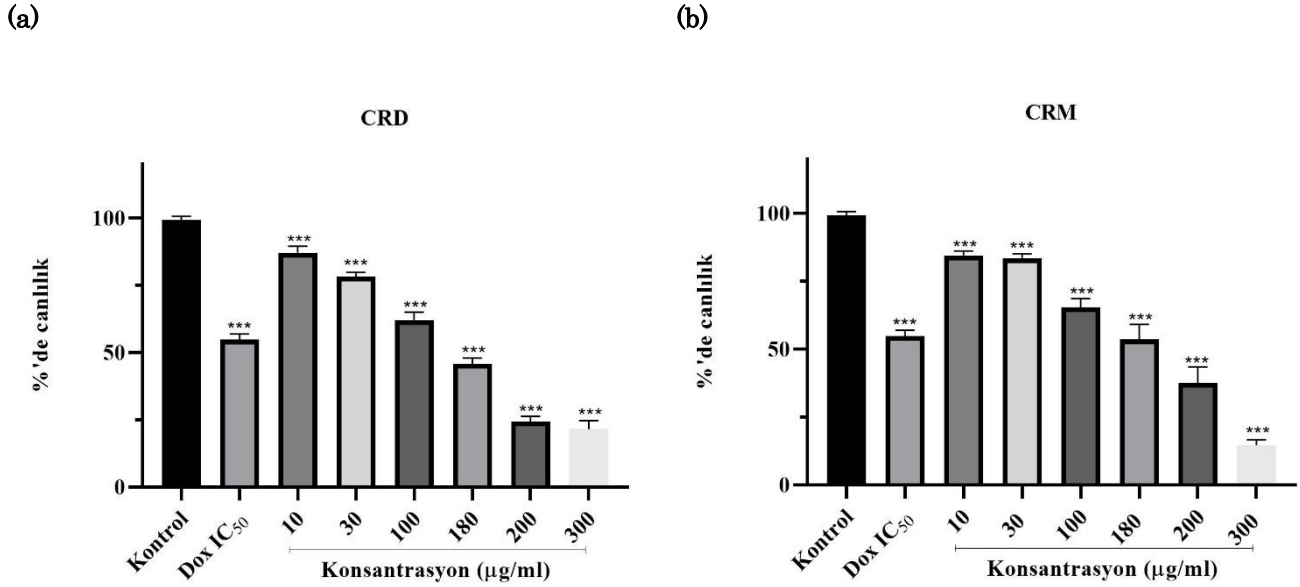
Bu çalışmada serviks kanseri hücre hattında potansiyel sitotoksitesiyi ölçmek ve değerlendirmek için hücre ekiminden 24 sa. sonra e-plaka kuyucuklarına kontrol grubu, IC₅₀ konsantrasyonunda doksorubisin (1.00 µM), belirlenen CRD konsantrasyonları (10, 30, 100, 180, 240 µg ml⁻¹) ve belirlenen CRM konsantrasyonları (10, 30, 100, 180, 240 µg ml⁻¹) uygulandı. Zamana bağlı hücre indeksi (CI) profilleri, xCELLigence GZHA sistemi kullanılarak tespit edildi. Elde edilen hücre canlılığı analiz sonuçlarına göre ekstrenin aktivitesi yorumlandı.

İstatistiksel Analizler

Çalışma gruplarından elde edilen sonuçlar, GraphPad Prism 8.3.0 (Graph pad yazılımı, ABD) istatistiksel yazılımı kullanılarak analiz edildi. Sonuçların analizinde, deney ve kontrol grupları arasındaki anlamlılığı saptamada farklılıklara uygun olarak tek yönlü varyans analizi ile istatistiksel farklılığa sahip parametreleri saptamada post-hoc test olarak Dunnet testi kullanıldı. Veriler 3 ayrı deneyden hesaplanan ortalama ± ortalamanın standart hatası olarak verildi. p<.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ve anlamlılık aralıkları *<.05; **<.01 ve ***<.001 olarak belirlendi.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Dünyada birçok bölgede endemik olarak varlığını sürdüren farklı *Centaurea* türleri bulunmaktadır. Türlerin endemik (Keser ve ark., 2020) oluşu bilimsel anlamda sınırlı sayıda çalışma bulunmasına neden olmuştur. Nitekim Türkiye'ye endemik *C. Iycaonica* türüne ait literatürde başka sitotoksite çalışmasına rastlanmamıştır. Bu çalışmada, *C. Iycaonica* türünün kök kısmına ait diklorometan ve metanol ekstralarının HeLa hücre hattındaki sitotoksik etkisi araştırıldı. Söz konusu ekstraların farklı konsantrasyonlarının sitotoksik etki düzeyi MTT (Şekil 1) ve xCELLigence GZHA sistemi (Şekil 2 ve Şekil 3) kullanılarak verildi. MTT yönteminde ekstralar 10, 30, 100, 180, 200, 300 µg ml⁻¹ konsantrasyonlarda 48 sa. süreyle uygulandı. CRD ve CRM'nin hücre canlılığını 100 µg ml⁻¹ (P<.001); 180 µg ml⁻¹ (P<.001); 200 µg ml⁻¹ (P<.001); 300 µg ml⁻¹ (P<.001) konsantrasyonlarda %70'in altına düşürdüğü görüldü. CRD ve CRM'nin 180, 200, 300 µg ml⁻¹ konsantrasyonlarında, pozitif kontrol olan doksorubisinin IC₅₀ değerinden daha fazla hücre canlılığını azalttığı gözlemlendi. HeLa hücresinde CRD'nin 48 sa. için IC₅₀ değeri 111.5 µg ml⁻¹; CRM'nin 48 sa. için IC₅₀ değeri 143.30 µg ml⁻¹ olarak hesaplandı.



Şekil 1. HeLa hücrelerinin 48 saatlik CRD (a) ve CRM (b) maruziyeti sonrası MTT deney sonuçları
Figure 1. HeLa cells' MTT assay results after 48-hour exposure to CRD (a) and CRM (b)

Pozitif kontrol: Doksorubisin IC₅₀: 1.00 µM uygulandı.

Gruplar kontrole göre yüzde değişimi olarak verildi. Değerler GraphPad Prism 8.3.0 programında One-way ANOVA ve post-hoc Dunnett testi ile analiz edildi. p değeri <.05. Anlamlılık aralığı; ***<.001. Sonuçlar, ortalama ± ortalamanın standart hatası olarak sunuldu.

Positive control: Doxorubicin IC₅₀: 1.00 µM was applied.

Groups were given a percentage change compared to the control. Values were analyzed by One-way ANOVA and post-hoc Dunnett test in GraphPad Prism 8.3.0 software. p value <.05. Significance range; ***<.001. Results are presented as mean ± standard error of the mean.

xCELLigence GZHA sisteminde ekstreler 10, 30, 100, 180, 240 µg ml⁻¹ konsantrasyonlarda 48 sa. süreyle uygulandı ve hücre profili izlendi. HeLa hücresinde CRD'nin 48 sa. için IC₅₀ değeri 162.47 µg ml⁻¹; CRM'nin 48 sa. için IC₅₀ değeri 177.01 µg ml⁻¹ olarak hesaplandı. Hücre profillenmesi incelendiğinde ise bitki ekstrelerinin artan konsantrasyonlarda CI değerini azalttığı, xCELLigence sistemine ait deney sonuçlarının ve IC₅₀ değerlerinin, MTT deney sonuçları ve IC₅₀ değerleri ile tutarlılık gösterdiği görüldü. Cinse ait literatür incelemesi yapıldığında, CRD ve CRM'nin tespit edilen sitotoksik etkilerinin bitkideki terpenler (Huang ve ark., 2018), fenolik bileşikler ve flavonoid içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Ayad & Akkal, 2019; Fattaheian-Dehkordi ve ark., 2021). CRD ve CRM'nin HeLa hücrelerinde sitotoksitesinin gösterilmesi bu çalışmayla bir ilk teşkil etmektedir. Bu nedenle, tespit edilen IC₅₀ değerleri ile doğrudan bir literatür karşılaştırılması yapılamadı. *C. calcitrapa* subsp. *calcitrapa* türünün yaprak kısmına ait metanol ekstresinin HeLa hücre hattındaki sitotoksik etkisinin incelendiği bir çalışmada 48 sa.'lik maruziyette IC₅₀ değerinin 92.5 µg ml⁻¹ olduğu tespit edilmiştir (Erol-Dayı ve ark., 2011). Artun ve Karagöz (2021) ise *C. hermannii*'nin yapraklarından hazırlanan %95'lik metanol ekstresinin HeLa hücre hattındaki potansiyel sitotoksik etkisini, MTT ve xCELLigence GZHA sistemi kullanılarak incelemiş ve metotlara göre sırasıyla 48 sa. için IC₅₀ değerlerini 15.74 µg ml⁻¹; 18.3 µg ml⁻¹ olarak bulmuşlardır. Sitotoksitesinin hangi mekanizmayla ilişkili olduğu araştırılmış ve Kaspaz 3, 7 ve 9 aktivitesindeki artışla ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır. *Centaurea* cinsi ile aynı kanser hücre hattında yapılan bu çalışmalar, çalışmada kullanılan aynı metotların uygulanması ancak 48 sa. için farklı IC₅₀ değerlerinin elde edilmesi; kullanılan bitki türü ve kısımlarındaki farklılığa bağlı olduğu sonucuna varıldı. Bu çalışmadaki CRD ve CRM'ye ait IC₅₀ değerlerindeki farklılığın nedeni ise, bitki materyalinin farklı çözücü ile muamele edilmesidir. Analiz sonuçları değerlendirildiğinde daha sitotoksik olan çözücünün diklorometan olduğu görülmektedir. Literatüre bakıldığında, bu etkinin sebebinin diklorometan ekstresindeki zengin seskiterpen lakton içeriği olduğu düşünülmektedir (Huang ve ark., 2018). IC₅₀ değerlerindeki farklılığın bir diğer nedeni ise hücre canlılığının ölçüldüğü metotların farklı prensiplere dayanmasından ileri gelmektedir. MTT testi bir end-point test olarak hücre canlılığını ölçmeye yarayan hücreleri boya ve organik solventlerle muamele ederek spektroskopik veriler elde eden, eski ve güvenilir bir yöntemdir (Mosmann, 1983). xCELLigence GZHA sistemi ise mikroelektronik biyosensörler vasıtasıyla hücrelerin herhangi bir ajana maruz kaldığı andan tedavi sonlanana kadar olan tüm sürecin takibinin elektrokimyasal yolla, gerçek zamanlı olarak, bir boyanın kullanılmadığı, yeni ve daha çok verinin elde edildiği

bir yöntemdir (Oberge ve ark., 2020). Hücre ölümünün başlangıç zamanının ve hücre morfolojisindeki erken değişikliklerin daha net tespit edilebilir olmasının yanında ölçümün hücelere zarar vermeden yapılabilir olması, sistemin MTT testine olan üstünlüğüdür (Atmaca ve ark., 2016). xCELLigence GZHA sisteminde CI, altın kaplama e plaka üzerindeki hücrelerin büyümesi, büzülmesi, ölümü, yapışması ve morfolojik değişikliklerine göre ölçülen elektriksel empedans değerini belirlediği için elektrot temas yüzeyindeki hücre yüzeyinin azalmasının nedenleri olan hücre sayısının azalması, hücrelerin büzülmesi ve yapışma kapasitelerinin azalması veya kaybolması hücrel indeksin azalmasına neden olmaktadır. xCELLigence ve MTT sonuçlarına göre, CRD ve CRM'nin hücre ölümünden önce hücrelerin küçülmesine veya yapışma yeteneğini kaybetmesine neden olabileceği düşünülmektedir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

C. lycanica türünün sitotoksik etkisini değerlendirmek üzere bitkinin kök kısmından hareketle diklorometan ve metanol ekstraktlarının farklı konsantrasyonları hazırlanıp HeLa hücrelerine 48 sa.'lik tedavi uygulandı. Sitotoksikite kantitatif olarak MTT ve xCELLigence GZHA yöntemleri ile tahlil edildi. Sonuç olarak metotlara göre sırasıyla, CRD'nin IC₅₀ değerleri 111.50; 162.47 µg ml⁻¹, CRM'nin IC₅₀ değerleri 143.30; 177.01 µg ml⁻¹ bulundu. *C. lycanica* için bu değerlendirme bilindiği kadarıyla literatürde ilk defa yapılmaktadır. Çalışmanın konusu olan türün, aktif bileşenlerine ait sitotoksik etki mekanizmasının belirlenmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca bu çalışma ile kanser tedavisinde büyük bir öneme sahip olan doğal kaynaklardan elde edilen ilaç çalışmalarının ve endemik bitkilerin değerlendirilmesinin önemi vurgulandı. Çalışmanın, *Centaurea* türlerinin araştırılması, sitotoksik etki düzeylerinin belirlenmesi ve etki mekanizmalarının aydınlatılması gibi ileri düzeydeki çalışmaları teşvik edeceği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Hazırlanmış olan bu araştırma çalışması, TÜBİTAK 2209-A kapsamında 1919B012314005 kodu ile desteklenen bitirme projesinden üretilmiş olup katkılarından dolayı TÜBİTAK'a teşekkürlerimizi sunarız.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Artun, F. T., & Karagöz, A. (2021). Antiproliferative and apoptosis-inducing effects of the methanolic extract of *Centaurea hermannii* in human cervical cancer cell line. *Biotechnic & Histochemistry*, 96(1), 1-10. <https://doi.org/10.1080/10520295.2020.1751288>
- Atmaca, H., Bozkurt, E., Kısım, A., & Uslu, R. (2016). Comparative analysis of XTT assay and xCELLigence system by measuring cytotoxicity of resveratrol in human cancer cell lines. *Turkish Journal of Biochemistry*, 41(6), 413-421. <https://doi.org/10.1515/tjb-2016-0128>
- Ayad, R., & Akkal, S. (2019). Phytochemistry and biological activities of Algerian *Centaurea* and related genera. *Studies in natural products chemistry*, 63, 357-414. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817901-7.00012-5>
- Brown, A. J., & Trimble, C. L. (2012). New technologies for cervical cancer screening. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*, 26(2), 233-242. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2011.11.001>
- Davis P.H. (1970). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 3; 548-625.
- Delgado-Waldo, I., Contreras-Romero, C., Salazar-Aguilar, S., Pessoa, J., Mitre-Aguilar, I., García-Castillo, V., ... & Jacobo-Herrera, N. J. (2023). A triple-drug combination induces apoptosis in cervical cancer-derived cell lines. *Frontiers in Oncology*, 13, 1106667. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1106667>
- Erol-Dayı, Ö., Pekmez, M., Bona, M., Aras Perk, A., Arda, N. (2011). Total phenolic contents, antioxidant activities cytotoxicity of three *Centaurea* species: *C. calcitrapa* subsp. *calcitrapa*, *C. ptosimopappa* *C. spicata*. *Free Radicals and Antioxidants*, 1(2), 31-36. <https://doi.org/10.5530/ax.2011.2.7>
- Fattaheian-Dehkordi, S., Hojjatifard, R., Saeedi, M., & Khanavi, M. (2021). A review on antidiabetic activity of *Centaurea* spp.: A new approach for developing herbal remedies. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/5587938>
- Gras, A., Parada, M., Pellicer, J., Vallès, J., & Garnatje, T. (2022). Cancer and Traditional Plant Knowledge, an Interesting Field to Explore: Data from the Catalan Linguistic Area. *Molecules*, 27(13), 4070. <https://doi.org/10.3390/molecules27134070>

- Huang, W., Gfeller, V., & Erb, M. (2018). Root volatiles in plant-plant interactions II: Root terpenes from *Centaurea stoebe* modify *Taraxacum officinale* root chemistry and root herbivore growth. *bioRxiv*, 441790. <https://doi.org/10.1101/441790>
- Jabri, T., Imran, M., Aziz, A., Rao, K., Kawish, M., Irfan, M., ... & Shah, M. R. (2019). Design and synthesis of mixed micellar system for enhanced anticancer efficacy of Paclitaxel through its co-delivery with Naringin. *Drug development and industrial pharmacy*, 45(5), 703-714. <https://doi.org/10.1080/03639045.2018.1550091>
- Keser, S., Keser, F., Turkoglu, İ., Kaygılı, O., ... & Turkoglu S. (2020). In Vitro Biological Evaluation and Phytochemical Contents of Three *Centaurea* L. Species Growing from Eastern Anatolia in Turkey. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım Ve Doğa Dergisi*, 23(1), 148-156. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogava.vi.589279>
- Khammar, A., & Djeddi, S. (2012). Pharmacological and biological properties of some *Centaurea* species. *Eur J Sci Res*, 84(3), 398-416. <http://www.europeanjournalofscientificresearch.com>
- Kısa, D., Çelik, A., & İmamoğlu, R. (2024). Assessment of Inhibitory Ability Against Medicinally Important Enzymes with Invitro and In Silico Studies: Phenolic Content of Endemic *Centaurea cadmea* subsp. *pontica*. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım Ve Doğa Dergisi*, 27(1), 14-25. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogava.vi.1294720>
- Koc, S., Isgor, B. S., Isgor, Y. G., Shomali Moghaddam, N., & Yildirim, O. (2015). The potential medicinal value of plants from Asteraceae family with antioxidant defense enzymes as biological targets. *Pharmaceutical biology*, 53(5), 746-751. <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.942788>
- Lopes, D. C. D. X. P., de Oliveira, T. B., Viçosa, A. L., Valverde, S. S., & Júnior, E. R. (2021). Anti-inflammatory activity of the compositae family and its therapeutic potential. *Planta Medica*, 87(01/02), 71-100. <https://doi.org/10.1055/a-1178-5158>
- Lu, X., Yang, F., Chen, D., Zhao, Q., Chen, D., Ping, H., & Xing, N. (2020). Quercetin reverses docetaxel resistance in prostate cancer via androgen receptor and PI3K/Akt signaling pathways. *International Journal of Biological Sciences*, 16(7), 1121. <https://doi.org/10.7150/ijbs.41686>
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, 65(1-2), 55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Oberg, H. H., Peters, C., Kabelitz, D., & Wesch, D. (2020). Real-time cell analysis (RTCA) to measure killer cell activity against adherent tumor cells in vitro. In *Methods in Enzymology* (Vol. 631, pp. 429-441). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2019.07.020>
- Rajaram, S., & Gupta, B. (2021). Screening for cervical cancer: Choices & dilemmas. *Indian Journal of Medical Research*, 154(2), 210-220. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_857_20
- Saklani, A., & Kutty, S. K. (2008). Plant-derived compounds in clinical trials. *Drug discovery today*, 13(3-4), 161-171. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2007.10.010>
- Shaikh, R., Daniel, A., & Lyng, F. M. (2023). Raman Spectroscopy for Early Detection of Cervical Cancer, a Global Women's Health Issue-A Review. *Molecules*, 28(6), 2502. <https://doi.org/10.3390/molecules28062502>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3), 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Wu, L., Cao, K., Ni, Z., Wang, S., Li, W., Liu, X., & Chen, Z. (2019). Rhein reverses doxorubicin resistance in SMMC-7721 liver cancer cells by inhibiting energy metabolism and inducing mitochondrial permeability transition pore opening. *Biofactors*, 45(1), 85-96. <https://doi.org/10.1002/biof.1462>
- Xu, J., Liu, D., Niu, H., Zhu, G., Xu, Y., Ye, D., ... & Zhang, Q. (2017). Resveratrol reverses Doxorubicin resistance by inhibiting epithelial-mesenchymal transition (EMT) through modulating PTEN/Akt signaling pathway in gastric cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 36, 1-14. <https://doi.org/10.1186/s13046-016-0487-8>
- Yuan, C. H., Horng, C. T., Lee, C. F., Chiang, N. N., Tsai, F. J., Lu, C. C., ... & Chen, F. A. (2017). Epigallocatechin gallate sensitizes cisplatin-resistant oral cancer CAR cell apoptosis and autophagy through stimulating AKT/STAT3 pathway and suppressing multidrug resistance 1 signaling. *Environmental toxicology*, 32(3), 845-855. <https://doi.org/10.1002/tox.22284>