

SALVIA FRUTICOSA YAPRAK EKSTRAKTININ İNSAN PERİFERAL LENFOSİTLERİNDE SİTOTOKSİK ETKİSİ*

The Cytotoxic Effect of Salvia fruticosa Leaf Extract in Human Lymphocytes

Nadire KOPAR
Biyoloji Anabilim Dalı

Eyyüp RENCÜZOĞULLARI
Biyoloji Bölümü

ÖZET

Bu çalışmada, S9mix varlığında ve yokluğunda *Salvia fruticosa* (Sf) bitkisinin yaprak ekstraktının insan periferal lenfositlerinde sitotoksik etkisi araştırılmıştır. Sf yaprak ekstraktının sitotoksik etkisi mitotik indeks (MI), proliferasyon indeksi (PI) ve nükleer bölünme indeksinin (NBI) hesaplanması ile saptanmıştır. Bu amaçla Sf yaprak ekstraktının 1.5, 3.0 ve 6.0 µl/ml'lik dozları 24 ve 48 saatlik muamele sürelerinde denenmiştir.

S9mix yokluğunda Sf yaprak ekstraktı tek başına MI'ı düşürerek sitotoksik etki yapmış fakat PI ve NBI'ni düşürmemiştir. S9mix varlığında ise sitotoksik olmadığı, yüksek dozlarda ise Cyp'nin sitotoksik etkisini artırdığı saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Salvia fruticosa*, insan periferal lenfositleri, mitotik indeks, proliferasyon indeksi, nükleus bölünme indeksi

ABSTRACT

In the present study, the cytotoxic effect of *Salvia fruticosa* (Sf) leaf extract were tested with absence and presence of S9 mix. The cytotoxicity of Sf leaf extract was investigated by calculating the mitotic index (MI), proliferation index (PI) and nuclear division index (NDI). For this reason, the lymphocytes were treated with 1.5, 3.0 and 6.0 µl/ml concentrations of Sf leaf extract for 24h and 48h treatment periods.

In the absence of S9mix Sf leaf extract showed a ctotoxic effect via decreasing the MI, however it did not decrease the PI and NDI. In the presence of S9mix, Sf leaf extract had no cytotoxic effect, however it induced the cytotoxicity of Cyp.

Key Words: *Salvia fruticosa*, human peripheral lymphocytes, mitotic index, proliferation index, nucleus division index.

Giriş

İnsanlar yüzyıllardan beri hastalıklara karşı elde ettikleri bitkiler ile çare bulmaya çalışmışlardır. Bitkiler ile hastalıkları tedavi etme yöntemleri oldukça başarılı sonuçlar vermiştir. Bundan dolayı bitkilerin tedavide kullanımı günümüze kadar devam etmiştir. Birçoğu tesadüfen, birçoğu da merak sonucu denenerek etkileri anlaşılan doğal ilaçlar, kulaktan kulağa yayılarak herkes tarafından tanınmış ve yıllar geçtikçe daha farklı bitkilerin başka dertlere de deva oldukları anlaşılmıştır.

*Yüksek Lisans Tezi-Msc. Thesis

Şifalı bitkilerin özellikleri ve kullanımları hakkındaki ilk Avrupalı, bilimsel eser, *De Materia Medica* (Şifalı Bitkiler) Yunanlı hekim Dioscorides tarafından M.S. birinci yüzyılda derlenmiştir. Onyedinci yüzyıla kadar onun 500'den fazla kataloğu yetkin bir başvuru kaynağı olarak kalmıştır. Orta çağı takip eden yüzyıllarda şifalı bitkilerin öneminin devamı, onbeşinci yüzyılda matbaanın icadı ile yüzlerce şifalı bitkiler kitabının basılması ile gösterilmiştir. Theophrastus'un *Bitkiler Tarihi* adlı kitabı bu devirde basılan kitaplardan birisidir. 20. yüzyılda tıp biliminin muazzam bir şekilde gelişmesine rağmen bitkilerin geleneksel tıpta kullanımı halen devam etmektedir (Jain ve ark.2007)

Doğaya dönüşümün bir slogan haline geldiği günümüz dünyasında tıbbi ve aromatik bitkiler Türkiye'de de önemli bir yere gelmiştir. Türkiye pek çok bitkinin gen merkezi olmasının yanında, bazı endemik türlerin de bulunduğu coğrafik bölgeleri içermektedir.

Geleneksel halk hekimliğinde kullanılan bitkiler bilimsel bir süzgeçten geçirilerek yeniden değerlendirilmiş ve fitoterapi bir bilim dalı haline gelmiştir. Bu bilim dalı giderek gelişmekte ve daha fazla önem kazanmaktadır. Dünya sağlık örgütü (WHO) verileri, gelişmekte olan ülkelerde insanların %80'nin bu terapi yöntemlerini kullandığını ve 3.3 milyar insanın da tıbbi bitkilerden terapi aracı olarak yararlandığını ortaya koymuştur (Çelik ve Çelik, 2007).

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) araştırmalarına göre tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı 20.000 civarındadır (Kalaycıoğlu ve Öner, 1994).

Uçucu yağlar, farklı bileşenleri içeren kompleks karışımlar olduklarından biyolojik etkileri yönünden de farklılık göstermektedir (Bağcı ve Dığrak, 1997). Ayrıca aromatik bitkilerin uçucu yağlarının ki bunların çoğu *Labiatae* (*Lamiaceae*) familyasına ait olup, antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir (Elgayyar ve ark., 2001). Bitkiler gibi doğal kaynaklardan elde edilen antimikrobiyal maddelerin gıda güvenliğini yüksek oranlarda korumayı başardığı araştırılarak bulunmuştur (Alzoreky ve Nakahara, 2003). Kekik, karabiber, nane, sarımsak ve adaçayı hidrosollarının *Bacillus subtilis* ve *Salmonella enteritidis* üzerine etkileri araştırılmış ve antibakteriyel etki gösterdiği görülmüştür (Al-Turkia, 2007). Bu bitkiler doğal yiyecek ya da içecek olarak insan ve hayvanlardaki gut hastalığını tedavi ettiği düşünülerek halk arasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca sarımsak, tarçın, köri, hardal, fesleğen, zencefil ve diğer bazı bitkilerin antimikrobiyal özellikler gösterdikleri belirtilmektedir (Marino ve ark., 1999).

Biberiye (*Rosemarinus officinalis* L.), adaçayı (*Salvia fruticosa*), ve sumak (*Rhus coriaria* L.) ekstraktları fıstık yağına uygulanmış ve tüm ekstraktlar kontrole oranla antioksidan aktivite göstermişlerdir (Ozcan, 2003). Sodyum nitritin genotoksik etkisine karşı yeşil biber ekstraktının antimitojenik etki gösterdiği saptanmıştır (Ramirez ve ark.,2001). Fakat nane ve çam bitkisinden ekstrakte

edilen bazı uçucu yağların genotoksik etkiye sahip olduğu SMART test ile tespit edilmiştir (Lazutka ve ark.,2001).

Salvia cinsine ait bazı türlerin tümör hücrelerinin gelişimini azalttığı, anti-genotoksik ve anti-mikrobiyal etkileri olduğu saptanmıştır (Kaileh ve ark., 2007; Sivropoulou ve ark.,1997; Goze ve ark., 2009; Patenkovic ve ark., 2009).

Bununla birlikte Al-Hamood ve ark. (1998) Sf bitkisinden elde edilen ekstraktların erkek ve dişi sıçanlarda fertilitede azalmaya neden olduğu, canlı fetus sayısını azalttığı ve gebe sıçanlarda nefes alma sıklığını artırdığını saptamışlardır. Halbuki, Domaracky ve ark. (2007) Lamiaceae familyasına ait bazı *Salvia* cinslerinden elde edilen yağın embriyo gelişimi üzerine hiçbir etkisinin olmadığını sadece hücre sayısını azalttıkları ve hücre ölümüne neden olduklarını saptamışlardır.

Perfumi ve ark. (1991) Sf ekstraktının tavşanlarda glukozun intestinal absorpsiyonunu azaltarak hipoglisemiye neden olduğunu bildirmişlerdir. Bir başka araştırmacı grubu *Salvia miltiorrhiza* ekstraktının normal sıçan böbreği fibroblast hücrelerinde anti fibrotik aktivite gösterdiğini saptamışlardır (Hu ve ark., 2009).

Bugüne kadar *Salvia* cinsi halk arasında birçok hastalık tedavisinde kullanılmış ve birçok çalışmayla da bu bitkinin insan sağlığına yararları olduğu anlaşılmıştır. Bu genusta yer alan *Salvia fruticosa* ile ilgili çalışmalar olmasına karşın planladığımız şekilde bir araştırma daha önce yapılmamıştır. Bu çalışmanın amacı *Salvia fruticosa* bitki ekstraktının insan periferik lenfositlerinde sitotoksik etkisini araştırmaktır..

Materyal ve Metot

Materyal

Bu çalışmada materyal olarak insan periferik kanı, besiyeri olarak PbMax kromozom medyumunu ve test maddesi olarak da *Salvia fruticosa* bitkisinin yaprak ekstraktı kullanılmıştır.

Metod

Aynı yaş grubunda, sağlıklı ve sigara içmeyen insanlardan alınan (1 bayan, 1 erkek) 1/10 heparinize edilmiş periferik kanın 0.2 ml'si kromozom medyumuna (Biochrom Cat. No F5023) ilave edilmiştir. Kanın ilavesinden hemen sonra son konsantrasyonu 10 µg/ml olacak şekilde steril 5-bromo-2-deoksiuridin ilave edilerek kültür 37°C'deki inkübatörde 72 saat inkübe edilmiştir. Test maddesinin ön çalışma sonucu belirlenen non toksik 3 konsantrasyonu (1.5, 3.0 ve 6.0 µl/ml) kültür ortamına kültürün başlangıcından 24 ve 48 saat sonra ilave edilmiş ve hücrelerin test maddesiyle 24 ve 48 saat boyunca muamele edilmeleri sağlanmıştır. Kültür süresinin bitiminden 2 saat önce (yani kültürün 70. saatinde) her tüpe hazırlanan kolşisin eriyiğinden ilave edilmiş (0.06 µg/ml) ve tüpler hafifçe sallanarak iyice karıştırılmıştır. Hücreler 2 saat süresince (37°C'de) kolşisin ile ön muameleye tabi tutulmuştur. Kültür süresi olan 72. saatin bitiminde kültür tüpleri 1200 devir/dk

(rpm)'da 15 dk. santrifüj edilmiş, süpernatant atılmıştır. Dipte kalan ve hücreleri ihtiva eden 0.5-0.7 ml'lik sıvı iyice karıştırıldıktan sonra tüplere, etüvde 37°C'de tutulan hipotonik eriyik ilave edilmiştir. Bu eriyiğin ilavesi damla damla ve karıştırılarak yapılmıştır. Aksi halde hücrelerde kümeleşme olmakta ve amaca uygun olmayan preparatlar hazırlanmaktadır. Her tüpe 5 ml hipotonik eriyik ilave edildikten sonra tüpler, ağzı kapatılarak inkübatöre konulmuştur. Hücreler 10 dk. hipotonik eriyikte 37°C'de muamele edilmiştir. Sürenin sonunda tüpler 15 dk. 1200 devir/dk'da santrifüj edilmiş, süpernatant atılmıştır. Bu sefer hipotonik eriyik ilavesi gibi yavaş yavaş ve karıştırarak her tüpe 5 ml olacak şekilde soğuk fiksatif ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 20 dk. fiksatif ile muamele edilen hücreler 1200 rpm'de 15 dk. santrifüj edilmiş ve süpernatant atıldıktan sonra tüplere tekrar fiksatif ilave edilmiştir. Bu işlem 3 kere tekrarlanmıştır. 3. fiksatif muamelesinin sonunda tüpte kalan sıvının tamamen berraklaştığı görülmüştür. Eğer sıvı berraklaşmamışsa tekrar fiksatif muamelesine devam etmek gerekir. Her fiksatif ilavesinden sonra tüpler santrifüj edilerek üstteki sıvı atılmıştır. Son santrifüjden sonra dipte 0.5-0.7 ml sıvı kalacak şekilde süpernatant atıldıktan sonra preparat yapma işlemine geçilmiştir.

Tüpün dibinde toplanan hücreler pasteur pipeti ile karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Pasteur pipetine 4-5 damla olacak şekilde bu hücre süspansiyonundan çekilmiştir. Özel olarak hazırlanmış düzeneğe tutturulan pasteur pipetinden daha önce temizlenmiş ve saf su içerisinde buzdolabında saklanmış lamların üzerine 75 cm yükseklikten farklı alanlara 1'er damla olmak üzere hücre süspansiyonu damlatılarak (her lama 3-4 damla) hücrelerin ve dolayısıyla kromozomların lam üzerinde yayılması sağlanmıştır. Hücre süspansiyonunun lamlara damlatılması esnasında damlaların üst üste düşmemesine dikkat edilmiştir.

Bu şekilde hazırlanan preparatlar kurumak üzere 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Salvia fruticosa yaprak ekstraktının DNA replikasyonu üzerindeki etkisi proliferasyon indeksi'nin (PI), mitoz bölünme üzerindeki etkisi ise mitotik indeks'in (MI) ve nükleus bölünme indeksi'nin (NBI) bulunması yoluyla saptanmıştır.

Sf yaprak ekstraktı tek başına her iki muamele sürelerinde ve her iki kontrol ile karşılaştırıldığında PI'ni etkilememiş, aynı sonuç MMC ile karışım halinde Sf ile muamele edilen lenfosit kültürlerinden de elde edilmiştir (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1).

Tek başına Sf yaprak ekstraktı 24 saatlik muamele süresinde tüm konsantrasyonlarda ve her iki kontrole nazaran MI'yi düşürmüştür. 48 saatlik muamele süresinde ise her iki kontrole göre düşürmüş fakat sadece son konsantrasyondaki düşüş çözücü kontrol ile kıyaslandığında istatistiki bakımdan önemli bulunmuştur. MMC ile mukayesede Sf yaprak ekstraktı ve MMC ile muamele edilen kültürlerde MI'in sadece 48 saatlik muamele süresinde ve en yüksek dozda düşürüldüğü saptanmıştır (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2).

Sf yaprak ekstraktı tek başına 24 saatlik muamele süresinde en düşük ve en yüksek dozlarda ve sadece çözücü kontrole nazaran NBI'ni düşürmüş, 48 saatlik muamele süresinde ise en yüksek iki dozda NBI'ni yine çözücü kontrole nazaran düşürmüştür (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.3).

Sf yaprak ekstraktı MMC'nin NBI üzerine etkisini 24 saatlik muamele süresinde doza bağlı olarak düşürmesine rağmen MMC ile karşılaştırmada sadece en yüksek konsantrasyondaki düşüş istatistiki olarak önemli bulunmuştur.

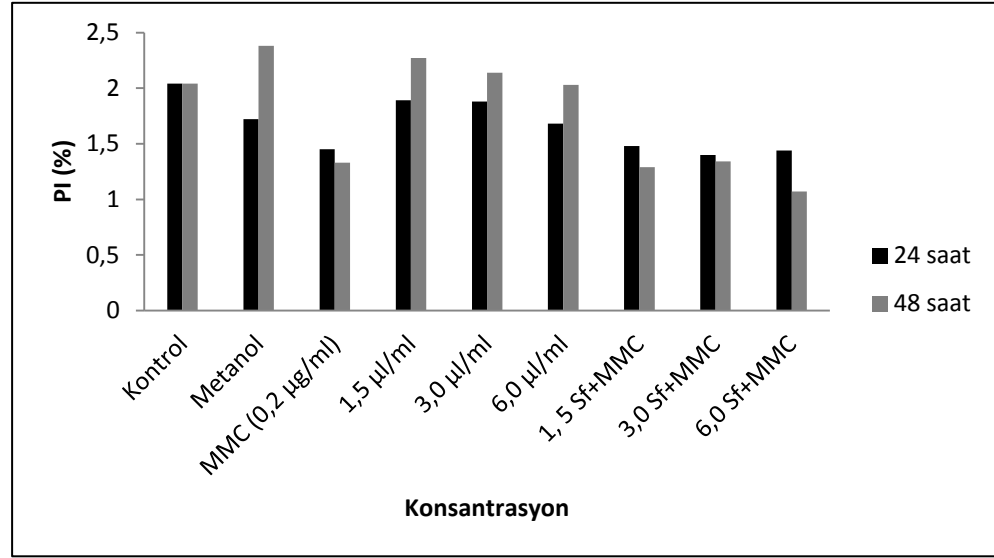
Çizelge 4.1.S9mix yokluğunda değişik dozlarda Sf yaprak ekstraktı veya Sf yaprak ekstraktı+MMC karışımı ile 24 ve 48 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde proliferasyon indeksi (PI), mitotik indeks (MI) ve nükleus bölünme indeksi (NBI).

Test maddesi	Süre saat	Konsant. µl/ml	PI±SE	MI±SE	NBI±SE
Kontrol	-	-	2.04±0.02	5.21±0.81	1.32±0.02
Metanol	24	6.0	1.72±0.02	5.28±0.30	1.43±0.08
MMC	24	0.2 µg/ml	1.45±0.01	2.43±0.07	1.22±0.04
Sf	24	1.5	1.89±0.03	3.53±0.04 a3b3	1.37±0.00 b2
"	24	3.0	1.88±0.01	3.46±0.19 a2b2	1.43±0.01
"	24	6.0	1.68±0.08	2.61±0.43 a2b2	1.33±0.03 b1
Sf+MMC	24	1.5 Sf+MMC*	1.48±0.02 a1b1	2.53±0.04 a3b3	1.33±0.04
"	24	3.0 Sf+MMC*	1.40±0.02 a1b1	2.88±0.06 a3b3	1.27±0.00 a2b3
"	24	6.0 Sf+MMC*	1.44±0.02 a1b1	2.06±0.19 a3b3	1.17±0.00 a3b3c3
Metanol	48	6.0	2.38±0.08	5.29±0.13	1.46±0.03
MMC	48	0.2 µg/ml	1.33±0.00	2.50±0.05	1.26±0.05
Sf	48	1.5	2.27±0.21	5.00±0.17	1.45±0.08
"	48	3.0	2.14±0.02	5.41±0.10	1.35±0.00 b3
"	48	6.0	2.03±0.18	4.18±0.35 b1	1.31±0.03 b1
Sf+MMC	48	1.5 Sf+MMC*	1.29±0.02 a1b1	2.24±0.16 a3b3	1.23±0.02 b2

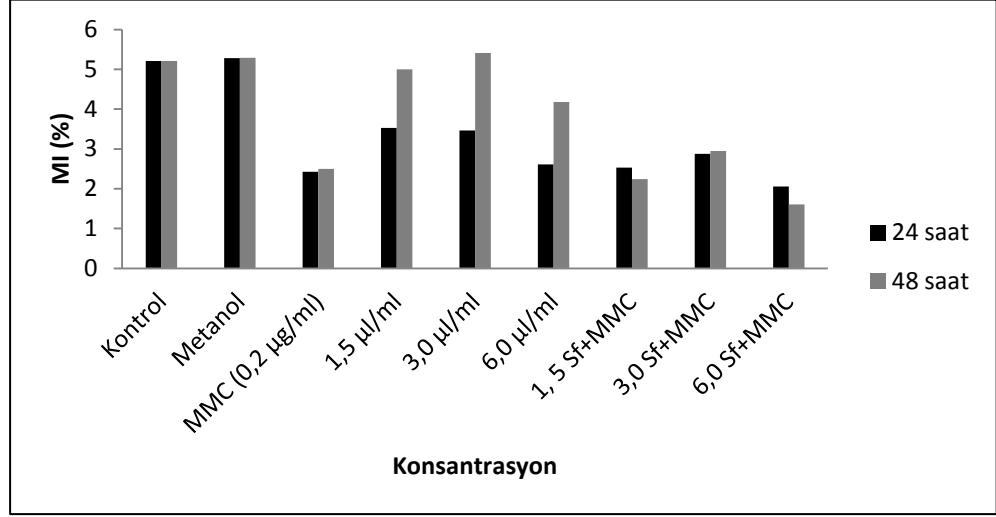
"	48	3.0 Sf+MMC*	1.34±0.03 a1b1	2.95±0.37 a2b2	1.23±0.03 b2
"	48	6.0 Sf+MMC*	1.07±0.02 a1b1	1.61±0.00 a3b3c3	1.24±0.07

a: Kontrol ile karşılaştırmada fark önemli; b: Çözücü kontrol ile karşılaştırmada fark önemli; c: Pozitif kontrol ile karşılaştırmada fark önemli, 1: $P \leq 0.05$; 2: $P \leq 0.01$; 3: $P \leq 0.001$

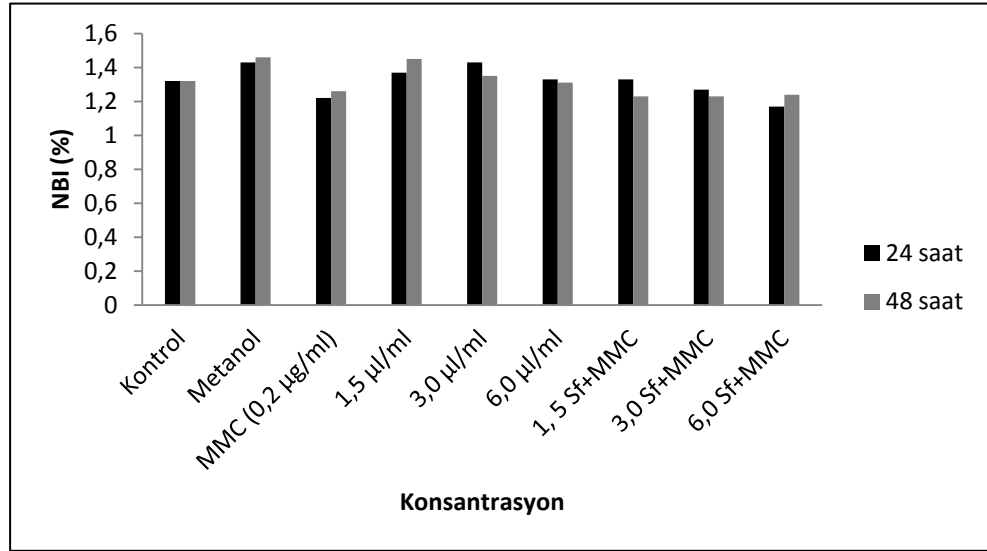
*MMC (Mitomycin C): 0.20 µg/ml



Şekil 4.1.S9mix yokluğunda farklı dozlarda Sf yaprak ekstraktı veya Sf yaprak ekstraktı+MMC karışımı ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferel lenfositlerinde PI



Şekil 4.2.S9mix yokluğunda farklı dozlarda Sf yaprak ekstraktı veya Sf yaprak ekstraktı+MMC karışımı ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferel lenfositlerinde MI



Şekil 4.3.S9mix yokluğunda farklı dozlarda Sf yaprak ekstraktı veya Sf yaprak ekstraktı+MMC karışımı ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde NBI

Sf yaprak ekstraktı ile veya Sf ve Cyp ile karışım halinde muamele edilen insan lenfositlerinde PI'nin her iki kontrole nazaran istatistiksel bakımından düşürülmediği saptanmıştır (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.4).

MI ve NBI ise Sf+Cyp ile karışım halinde muamele edilen kültürlerde ve sadece en yüksek dozda hem kontrole, hem çözücü kontrole ve hem de Cyp kontrole nazaran önemli derecede düşürülmüştür (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2). Diğer dozlarda ve Sf ile tek başına muamele edilen kültürlerin tüm dozlarında MI ve NBI'nin etkilenmediği saptanmıştır.

Daha önce yapılan çalışmalarda Lamiaceae familyası türlerinin ekstraktlarının genellikle anti-proliferatif etki gösterdikleri bildirilmiştir (Amirghofran ve ark., 2007; Haznagy-Radnai ve ark., 2006). Filistin'de bazı hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullanılan bitkilerden seçilen 24 türün anti-tumor (sitotoksik) ve anti-inflamatuar aktiviteleri farelerde fibroblast hücreleri (L929sA) ve insanda iyi huylu (MCF7) ve kötü huylu (MDA-MB231) göğüs kanseri hücreleri üzerinde test edilmiş ve yapılan çalışmalarda 24 tür içerisinde *Salvia fruticosa* en yüksek sitotoksik aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (Kaileh ve ark.,2007). Anti-oksidant maddeler birçok mekanizma ile hücreyi kanser oluşumuna karşı korurken, DNA tamir mekanizmalarında görev alan birçok enzim dahil diğer enzimlerin sentezlenmesini düzenlediği bildirilmiştir (Bianchini ve Vainio, 2001; Khanum ve ark., 2004; Sowjanya ve ark., 2009). Muhtemelen *S.fruticosa* yaprak ekstraktı yüksek dozlarda mutajenik bir madde olan Cyp'nin etkisinden organizmayı korumak için sitotoksik etki gösterdiği ve hücreleri öldürdüğü söylenebilir. Nitekim Domaracký ve ark. (2007) *Salvia* türlerinden elde edilen yağların hücre sayısını azalttıkları ve hücre ölümüne neden olduklarını saptamışlardır.

Çizelge 4.8.S9mix varlığında değişik dozlarda Sf yaprak ekstraktı veya Sf yaprak ekstraktı+Cyp karışımı ile muamele edilen insan periferik lenfositlerinde proliferasyon indeksi (PI), mitotik indeks (MI) ve nükleus bölünme indeksi (NBI).

Test maddesi	Konsantrasyon µg/ml	PI±SE	MI±SE	NBI±SE
Kontrol	-	1.60±0.14	3.15±0.08	1.11±0.04
Metanol	6.0	1.32±0.06	2.91±0.37	1.14±0.00
Cyp	28 µg/ml	1.32±0.11	2.71±0.23	1.09±0.06

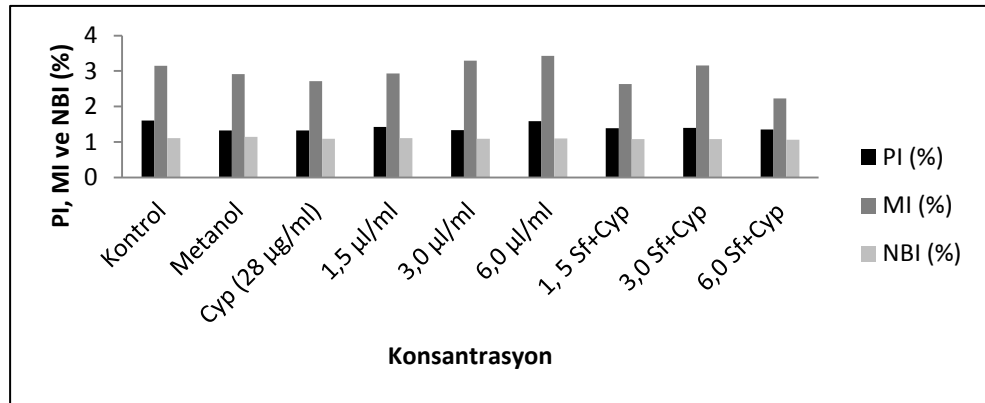
Sf Ekst.	1.5	1.42±0.11	2.93±0.26	1.11±0.01
"	3.0	1.33±0.09	3.29±0.90	1.09±0.02
"	6.0	1.59±0.21	3.43±0.59	1.10±0.00
Sf Ekst.+Cyp	1.5 Sf+Cyp*	1.39±0.09	2.63±0.42	1.08±0.01
	3.0 Sf+Cyp*	1.40±0.05	3.16±0.26	1.08±0.01
	6.0 Sf+Cyp*	1.35±0.17	2.23±0.03 a3b3c3	1.06±0.00 a1b2c1

a: Kontrol ile karşılaştırmada fark önemli; b: Çözücü kontrol ile karşılaştırmada fark önemli; c: Pozitif kontrol ile karşılaştırmada fark önemli, 1: P≤0.05; 2: P≤0.01; 3: P≤0.001

*Cyp (Cyclophosphamide): 28 µg/ml

Birçok hastalığın tedavisinde kullanılan bu bitki özellikle gaz giderici, kan temizleyici, antimikrobiyal, iştah açıcı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca solunum rahatsızlıklarında, kanser tedavisinde, karaciğer rahatsızlıklarının tedavisinde de tercih edilen bir bitkidir. Fakat farklı bölgelerde yaşayan bitkilerin içeriklerinin farklı olduğu düşünüldüğünde bu bitkinin yukarıda sayılan faydaları dışında zararları olabileceği ve hatta nörotoksik etki bile gösterebileceği söylenebilir. Hatta gebelerde nefes alma konusunda bazı sıkıntılara ve embriyo gelişiminde düşüşe de neden olabilmektedir.

Bu özellikler düşünüldüğünde mümkün olduğunca aşırıya kaçmadan kontrollü bir şekilde kullanılması fakat gebelik süresince ise kullanılmaması önerilmektedir.



Şekil 4.4.S9mix varlığında farklı dozlarda Sf yaprak ekstraktı veya Sf yaprak ekstraktı+Cyp karışımı ile muamele edilen insan periferel lenfositlerinde PI, MI ve NBI.

Kaynaklar

- AL-HAMOOD, M., H., ELBETİEHA, A., ALKOFAHİ, A., BATAİNEH, H., 1998. Reproductive toxicity potentials of *Salvia fruticosa* (Labiatae) in rats. *J Ethnopharmacol.*;61(1):67-74.
- AL-TURKI, A.I., 2007. *International journal of food, agriculture and environment* ISSN 1459-0255, 5: 92-94.
- ALZOREKY, N.S., NAKAHARA, K., 2003. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food Microbiology*, 80: 223-230.
- AMIRGHOFAN, Z., BAHMANI, M., AZADMEHR, A., and JAVIDNIA, K., 2007. Immunomodulatory and Apoptotic Effects of *Stachys obtusifolia* on Proliferative Lymphocytes. *Med. Sci. Monit.*, 13: 145-150.
- BAĞCI, E., DIĞRAK, M., 1997. Bazı Gökmar türleri uçucu yağlarının in vitro antimikrobiyal etkileri. *Tr. J. Of Biology*, 21: 273-281.
- BIANCHINI, F., and VAINIO, H., 2001. *Allium Vegetables and Organosulfur Compounds: Do They Help Prevent Cancer?*. *Environ. Health. Perspect.*, 109: 893-902.
- ÇELİK, E. ve ÇELİK, G.Y., 2007. Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 5: 1-6.
- DOMARACKÝ, M., REHÁK, P., JUHÁS, Š., KOPPEL, J., 2007. Effects of selected plant essential oils on the growth and development of mouse preimplantation embryos in vivo. *Physiol Res.*, 56:97-104.
- ELGAYYAR, M., DRAUGHON, F.A., GOLDEN, D.A., MOUNT, J.R. 2001. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *J. Food Prot*, 64: 1019-1024.
- GOZE, I., ALİM, A., DAG, S., TEPE, B., POLAT, Z.A., 2009. In vitro amoebicidal activity of *Salvia staminea* and *Salvia caespitosa* on *Acanthamoeba castellanii* and their cytotoxic potentials on corneal cells. *J Ocul Pharmacol Ther.*, 25: 293-298.
- HÁZNAGY-RADNAI, E., CZIGLE, S., ZUPKÓ, I., FALKAY, G., and MÁTHE, I., 2006. Comparison of Antioxidant Activity in Enzyme-Independent System of Six *Stachys* species. *Fitoterapia*, 77: 521-524.
- HU, Q., NOOR, M., WONG, Y.F., HYLANDS, P.J., SIMMONDS, M.S., XU, Q., JIANG, D., HENDRY, B.M., XU, Q., 2009. In vitro anti-fibrotic activities of herbal compounds and herbs. *Nephrol Dial Transplant.*, 24: 3033-3041.
- JAIN, S., SHRIVASTAVA, S., NAYAK, S. and SUMBHATE, S., 2007. PHCOG MAG.: Plant Review, Recent trends in *Curcuma longa* Linn. *Pharmacognosy Reviews*, 1: .

- KAILEH, M., BERGHE, W.V., BOONE, E., ESSAWI, T., HAEGEMAN, G., 2007. Screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential anti-inflammatory and cytotoxic activity. . J Ethnopharmacol., 113: 510-516.
- KALAYCIOĞLU, A., ÖNER, C., 1994. Bazı bitki ekstraktlarının antimutajenik etkilerinin Ames- Salmonella test sistemi ile araştırılması. Tr. Botany.,18: 117-122.
- KHANUM, F., ANILAKUMAR, K.R. and VISWANATHAN, K.R., 2004. Anticarcinogenic Properties of Garlic: a review. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 44: 479-488.
- LAZUTKA, J.R., MIERAUSKIENE, J., SLAPSYTE, G. and DEDONYTE, V., 2001. Genotoxicity of Dill (*Anethum graveolens* L.), Peppermint (*Mentha piperita* L.) and Pine (*Pinus sylvestris* L.) Essential Oils in Human Lymphocytes and *Drosophila melanogaster*. Food Chemical Toxicology, 39: 485-92.
- MARINO, M., BERSANI, C., COMI, G., 1999. Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L.measured using a bioimpedometric method. J.Food Prot., 62: 1017-1023.
- OZCAN, M., 2003. Antioxidant activities of rosemary,sage, and sumac extracts and their combinations on stability of natural peanut oil. J. Med. Food., 6: 267-270.
- PATENKOVIC, A., STAMENKOVIC-RADAK, M., BANJANAC, T., ANDJELKOVIC, M., 2009. Antimutagenic effect of sage tea in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. Food Chem Toxicol., 47: 180-183.
- PERFUMI, M, ARNOLD, N, TACCONI, R., 1991. Hypoglycemic activity of *Salvia fruticosa* Mill. from Cyprus. J Ethnopharmacol., 34: 135-140.
- RAMIREZ, P.V., JUDITH, G.R., ESPINOSA, A. and SUSANA, M.R., 2001. Antimutagenic Effect of One Variety of Gren Pepper and Its Possible Interference With The Nitrosation Process. Mutation Research, 496: 39-45.
- SIVROPOULOU, A., NIKOLAU, C., PAPANIKOLAOU, E., KOKKINI, S., LANARAS, T., ARSENAKIS, M., 1997. Antimicrobial, cytotoxic and antiviral activities of *Salvia fruticosa* essential oil. J. Agric. Food Chem., 45: 3197-3201.
- SOWJANYA, B.L., DEVI, K.R., and MADHAVI, D., 2009. Modulatory Effects of Garlic Extract Against the Cyclophosphamide Induced Genotoxicity in Human Lymphocytes in vitro. J. Environ. Biol., 30: 663-666.