T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PSEPHELLUS TURCICUS TÜRÜNÜN BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE KROMOZOMLARI

Erol BAŞOL

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ümit BUDAK

İkinci Tez Danışmanı
Doç. Dr. Gökçe ŞEKER KARATOPRAK

YOZGAT - 2022

T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PSEPHELLUS TURCICUS TÜRÜNÜN BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE KROMOZOMLARI

Erol BAŞOL

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ümit BUDAK

İkinci Tez Danışmanı
Doç. Dr. Gökçe ŞEKER KARATOPRAK

YOZGAT - 2022

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan eder, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İMZA

Erol BAŞOL

……/……/……

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PSEPHELLUS TURCICUS TÜRÜNÜN BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE KROMOZOMLARI

Erol BAŞOL

YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ

TEZ DANIŞMANI: Prof. Dr. Ümit Budak
İKİNCİ DANIŞMAN: Doç. Dr. Gökçe ŞEKER KARATOPRAK

Türkiye'nin dar endemik türleri arasında yer alan *Psephellus turcicus* Duran & Hamzaoğlu türünün bazı biyolojik aktiviteleri ve kromozomları bu tezin konusunu oluşturmaktadır. Türkiye'de bu cins 7 seksiyon içerisinde, yakın zamanda yayınlanan 7 taksonla birlikte toplamda 34 taksonla temsil edilmektedir. Ülkemizde yayılış gösteren taksonlardan 28'i ülkemiz için endemik olup oldukça lokal bir yayılış gösterirler. Bu verilere göre cinse ait endemizm oranı % 82'dir. Biyolojik aktivite ve kimyasal içerik çalışmalarında kullanılan bitkisel materyal, türün dünyadaki tek yayılış lokalitesi olan Yozgat ilinin Aydıncık ilçesinde bulunan Kazankaya kanyonunun eski mermer çıkarma bölgesinden temin edilmiştir. Kurutulduktan sonra bitkinin toprak üstü kısımları %80 metanol ile ekstre edilmiştir. % 80 metanol ekstresi daha sonra sırasıyla, kloroform, butanol ve etil asetat ile fraksiyonlanmıştır. Bitkinin toprak üstü kısmından hekzan ekstresi de hazırlanmıştır. Ekstrelerin toplam fenol miktarı, toplam flavonoit miktarı belirlenmiş, antioksidan aktiviteleri ve A549 (insan akciğer kanseri hücre hattı) ve MDA-MB 231(insan meme kanseri hücre hattı) hücre hatlarında sitotoksisiteleri çalışılmıştır. Ekstrelerin toplam fenol ve toplam flavonoit içerikleri incelendiğinde en zengin ekstre 202.55 ± 3.01 mgGAE/g_{ekstre} ve 44.83 ± 0.45 mgCA/g_{ekstre} değerleriyle etil asetat fraksiyonu olarak bulunmuştur. Etil asetat fraksiyonu her iki hücre hattında diğer ekstre ve fraksiyonlara göre canlılığı daha güçlü inhibe etmiş aynı zamanda antioksidan aktivite deneylerinde de en güçlü radikal süpürücü ekstre olarak bulunmuştur. *Psephellus turcicus* türünün kromozomal çalışmalarında ise kromozomların görüntüleri elde edilmiş kromozomal ölçümler ve karyotip analizi yapılmıştır. Bunun sonucunda halk arasında "Yurt Tülübaşı" olarak da bilinen *Psephellus turcisus*, türüne ait sitogenetik özellikler çatısı altında kromozom sayıları belirlenmiştir. Çalışma kapsamında incelenen taksonumuz diploid kromozom sayıları 2n = 2x = 30 olarak tespit edilmiş olup poliploidiye rastlanmamıştır.

2022, 55 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: *Psephellus turcicus*, Kromozom, Kimyasal içerik, Biyolojik Aktivite.

ABSTRACT

MASTER THESIS

SOME BIOLOGICAL ACTIVITIES AND CHROMOSOMES OF *PSEPHELLUS TURCICUS* SPECIES

Erol BAŞOL

YOZGAT BOZOK UNIVERSITY
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

Department of BIOLOGY

SUPERVISOR: Prof. Dr. Ümit Budak
CO-SUPERVISOR: Prof. Dr. Gökçe ŞEKER KARATOPRAK

Some biological activities and chromosomes of *Psephellus turcicus* Duran & Hamzaoğlu, which is among the narrow endemic species of Turkey, are the subject of this thesis. In Turkey, this genus is represented by a total of 34 taxa, with 7 recently published taxa within 7 sections. 28 of the taxa distributed in our country are endemics of our country and show a very local distribution. According to these data, the endemism rate of the genus is 82 %. The plant material used in the biological activity and chemical content studies was obtained from the old marble extraction area of the Kazankaya canyon located in the Aydıncık district of Yozgat province, which is the only distribution locality of the species in the world. After drying, the aerial parts of the plant were extracted with 80 % methanol. The 80 % methanol extract was then fractionated with chloroform, butanol and ethyl acetate, respectively. Hexane extract was also prepared from the aerial part of the plant. Total phenol content and total flavonoid content of the extracts were determined, their antioxidant activities and cytotoxicity in A549 (human lung cancer cell line) and MDA-MB 231 (human breast cancer cell line) cell lines were studied. When the total phenol and total flavonoid contents of the extracts were examined, the richest extract was found to be the ethyl acetate fraction with values of 202.55 ± 3.01 mgGAE/extract and 44.83 ± 0.45 mgCA/extract. The ethyl acetate fraction inhibited viability more strongly in both cell lines than the other extracts and fractions, and was also found to be the strongest radical scavenging extract in antioxidant activity experiments. In the studies of chromosomes of *Psephellus turcicus* species, images of chromosomes were obtained, chromosomal measurements and karyotype analysis were performed. As a result, the chromosome numbers of *Psephellus turcisus*, which is also known as "Yurt Tülübaşı" among the people, were determined under the roof of cytogenetic characteristics of the species. The diploid chromosome numbers of our taxon examined within the scope of the study were determined as 2n = 2x = 30 and no polyploidy was found.

2022, 55 pages

KEYWORDS: *Psephellus turcicus*, Chromosome, Chemical content, Biological Activity.

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmamda bana yol gösteren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve birikimleri ile aşmamda yardımcı olan Danışman Hocam Prof. Dr. Ümit BUDAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Bitkinin biyolojik aktivitelerinin laboratuvar çalışma sürecinde başından sonuna kadar yardımları ile yol gösteren ikinci tez danışmanım Doç. Dr. Gökçe ŞEKER KARATOPRAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Yine bitkinin kromozon sayımı laboratuvar çalışma sürecinde başından sonuna kadar yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Halil Erhan EROĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin yazım sürecinde yol gösteren Nisa GÜMÜŞ, Serdar ŞAHİN ve Yasemin KELEŞ DİNÇ'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreç boyunca hep yanımda olan aileme teşekkürlerimi sunarım.

Erol BAŞOL

…../……/2022

İÇİNDEKİLER

Tez Onay Sayfası…….. ii

Tez Beyanı…….. iii

Özet…….. iv

Abstract…… v

Önsöz…… vi

İçindekiler…… vii

Tablolar Listesi……..… x

Şekiller Listesi…….. xi

Resimler Listesi…….. xii

Simgeler ve Kısaltmalar Listesi…… xiii

1. GİRİŞ……..… 1

2. GENEL BİLGİLER..……... 3

2.1. Asteraceae Familyasının Genel Özellikleri…….…. 5

2.2. *Psephellus* Cinsinin Özellikleri……..… 5

2.2.1. Türkiye'nin *Psephellus* Türleri…….……..… 6

2.3. *Psephellus turcicus* Türürünün Morfolojik Özellikleri…… 6

2.3.1. *Psephellus* Cinsinin Tıbbi ve Ekonomik Önemi…… 7

2.3.2. *Psephellus turcicus* Türünün Biyolojik Özellikleri (Yaşam Evresi)……. 7

2.3.3. Çiçek ve Tohum Verimi…… 7

2.4. Türün Bölgedeki Durumu..……. 7

2.4.1. Yaşam Alanı (Habitat)…… 7

2.4.1.2. *Psephellus turcicus* Türünün Dağılımı ve Nüfusu……... 7

2.5. Tehditler ve Sınırlayıcı Faktörler…… 8

3. MATERYAL ve YÖNTEM……...……..… 9

3.1. Bitki Materyali ve Kullanılan Kimyasallar...…….. 9

3.1.1 Bitkisel Materyal……...……. 9

3.1.2. Kullanılan Aletler…….. 9

3.2. Deneysel Çalışma……. 9

3.2.1. Ekstrelerin Hazırlanışı……... 9

3.2.2. Kimyasal Kompozisyon Analizleri…….. 9
3.2.2.1. Total Fenol Miktarı…… 10
3.2.2.2. Total Flavonoit Miktarı…….. 10
3.2.3. Antioksidan Aktivite……. 10
3.2.3.1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil ($DPPH^{\bullet}$) Radikalini Süpürücü Etki Tayini……. 10
3.2.3.2. 2,2'-azino-bis (3- etilbenzathiazolin-6- sulfonik asit) ($ABTS^{+\bullet}$) Radikalini Süpürücü Etki Tayini……...……...…… 11
3.2.4. Hücre Kültürü Çalışmaları…… 11
3.2.4.1. A549 ve MDA-MB-231 Hücrelerinde Sitotoksik Etkinin MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid] Testi ile Belirlenmesi 11
3.2.5. *Psephellus turcicus* türünün Kromozomları…….. 12
3.2.5.1. Kromozom Analiz Yöntemi……... 12
3.2.5.2. Ön İşlem……. 12
3.2.5.3. Materyalin Tespiti…….. 12
3.2.5.4. Materyalin Muhafazası……... 12
3.2.5.5. Hidroliz……... 12
3.2.5.6. Mitotik Metafaz Kromozomlarının Boyanması……. 13
3.2.5.7. Preparat Hazırlama ve İnceleme……. 13
3.2.5.8. Kromozomların Görüntülenmesi…… 13
3.2.5.9. Kromozomal Ölçümler ve Karyotip Analizi…….. 13
4. BULGULAR……... 15
4.1 Spektrofotometrik Bileşim Analizleri……..……. 15
4.1.1. Toplam Fenol ve Flavonoit Miktar Tayini…… 15
4.2. Antioksidan Aktivite Çalışmaları……. 15
4.2.1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil ($DPPH^{\bullet}$) Radikalini Süpürücü Etki Tayini…… 15
4.2.2. ,2'- Azino-bis (3- etilbenztiazolin-6- sulfonik asit) ($ABTS^{+\bullet}$) Radikalinin Süpürücü Etki Tayini…...……... 16
4.2.3. A549 ve MDA-MB-231 Hücrelerinde Sitotoksik Etkinin MTT Testi ile Belirlenmesi…… 17
4.3. Kromozomal Veriler……... 22
5. TARTIŞMA……..…….....…… 27

6. KAYNAKLAR…… 32
ÖZGEÇMİŞ

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo		Sayfa
Tablo 3.1.	Kromozom tipleri ……...	14
Tablo 4.1.	Ekstrelerin toplam fenol ve toplam flavonoit miktarları …….	15
Tablo 4.2.	*P. turcicus* hekzan ekstresi, % 80 metanol ekstresi ve fraksiyonlarının A549 hücre hattında toksisiteleri …….	19
Tablo 4.3.	*P. turcicus* hekzan ekstresi, % 80 metanol ekstresi ve fraksiyonlarının MDA-MB 231 hücre hattında toksisiteleri…….	21
Tablo 4.4.	*Psephellus turcicus* türünün karyotip parametreleri……..	22
Tablo 4.5.	*Psephellus turcicus* türünün detaylı kromozom ölçüm verileri…….	25
Tablo 4.6.	*Psephellus turcicus* türünün karyotip asimetri değerleri……...	26
Tablo 5.1.	*Psephellus turcicus* ile *Psephellus goeksunensis* karşılaştırması……..	30

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil		Sayfa
Şekil 4.1.	*Psephellus turcicus* %80 metanol ekstresinin ve fraksiyonlarının DPPH$^{\bullet}$ radikalini süpürücü etkileri ……	16
Şekil 4.2.	*Psephellus turcicus* hekzan ekstresi, % 80 metanol ekstresi ve fraksiyonlarının ABTS$^{+\bullet}$radikalini süpürücü etkileri ……	17
Şekil 4.3.	*Psephellus turcicus* hekzan ekstresi, % 80 metanol ekstresi ve fraksiyonlarının A549 hücre hattında toksisiteleri. ……..	18
Şekil 4.4.	*Psephellus turcicus* hekzan ekstresi, % 80 metanol ekstresi ve fraksiyonlarının MDA-MB 231 hücre hattında toksisiteleri. ……..	20
Şekil 4.5.	*Psephellus turcicus* türünün idiyogramı……..	24

RESİMLER LİSTESİ

Resim		**Sayfa**
Resim 4.1.	*Psephellus turcicus* türünün metafaz kromozomları……	22
Resim 4.2.	*Psephellus turcicus* türünün metafaz kromozomları…….	23
Resim 4.3.	*Psephellus turcicus* türünün metafaz kromozomları……...…..	23

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	**Açıklamalar**
μm	**:** Mikro metre
m	**:** Metre
cm	**:** Santimetre
km²	: Kilometre kare
mm	: Milimetre
ºC	: santigrad derece

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
CR	: Çok tehlikede
IUCN	: Uluslararası Doğayı Koruma Birliği
HES	**:** Hidro elektirik santral
Na_2CO_3	**:** Sodyumbikarbonat
A549	**:** İnsan Akciğer Kanser Hücresi
MDA-MB-231	**:** İnsan meme kanseri hücre hattı
HCI	**:** Hidroklorik asit

1. GİRİŞ

İnsanlığın var oluşundan bu yana, insanlar bitkilerden farklı şekillerde yararlanmışlardır. Bitkilerin hangisinin besin ve hangisinin zehirli olduğu, hangi hastalıkların tedavisinde kullanılacağı gibi konular insanların eski çağlardan beri zihnini meşgul etmiştir (Karamanoğlu, 1977).

Geçmişten bugüne bitkiler insanlar için gıda aynı zamanda ilaç kaynağı olarak kullanılmıştır. Tıp dünyasında bitkilerin faydaları büyük oranda kabul edilmese de, insanlığın varoluş tarihinden bu güne bedenen ve ruhen oluşan rahatsızlıklarından dolayı çözüm bulmaya çalıştığı alan tabiat ve özellikle de bitkiler olmuştur. "Almaşık Tıp" ya da "Tamamlayan Tıp" olarak ifade edilen şifa arayışı, geçen asırda hız kazanmış bitkilerin üzerinde yapılan çalışmalar oldukça artmıştır (Kulkarni, 2000).

Yeryüzünde canlılar yaşamlarını devam ettirebilmek için gerekli besinleri, protein, yağ ve karbonhidrat gibi temel ihtiyaçları bitkilerden karşılarlar. Bu bileşikler primer metabolitler olarak adlandırılır. Bu bileşikler canlılarda, dönüşüm, enerjinin açığa çıkarma, sindirim, kalıtsal materyalin aktarılması ve ifadelenmesi gibi yaşam süreçlerinde görev alırlar. Bunların dışında lastik, zamk, selüloz, odun gibi yarar sağlayan maddeler de bitkilerden elde edilirler.

Bitkiler doğal ortamlarında çok farklı düşmanlar ile karşı karşıya kalmak durumdadır. Bitki türleri, bu tehditlerinden kaçmak için yer değiştirmeleri söz konusu olmadığına göre, bazı savunma mekanizmaları geliştirmek zorundadırlar. Bu mekanızmalardan biri de ürettikleri kimyasallardır. İnsanoğlu, bu kimyasalları kullanarak, tarihin ilk yıllarından günümüze kadar çok sayıda bitkiyi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanmıştır (Cowan, 1999).

Bitkiler geçmişten günümüze kadar tedavi amaçlı üretilen en önemli ilaç kaynaklarındandır. Bitkiler biyoaktif moleküller bakımından zengin ve tesirli olduğundan dolayı, bitkisel tedavide kullanılabilir bitki çeşitliliği hızlı bir şekilde artmıştır. Dünya genelinde bitkilerden elde edilen ilaçlar geleneklerine bağlı kültürlerde yaygın bir şekilde kullanılmakta ve günlük yaşamda da yapay kimyasallara doğal alternatifler olarak daha çok tercih edilir hale gelmiştir.

Türkiye yüzyıllar boyunca çeşitli medeniyetlere ev sahipliği yapması sebebiyle oldukça zengin bir kültüre ve kendine özgü alternatif tıp bilgisine sahip olmuştur. Türkiye'nin bitki çeşitliliği yönünden zengin bir florasının olmasının sebebi üç fitocoğrafik (Akdeniz, İran-Turan ve Avrupa-Sibirya) bölgenin kesiştiği alanda yer almasıdır. Ayrıca Güney Batı Asya ile Güney Avrupa arasında köprü vazifesi görmesi nedeniyle pek çok tür ve seksiyon buradan kaynaklanmaktadır.

Bugün itibariyle, Türkiye florasında 12000'den fazla bitki taksonu yer almaktadır. Bu taksonlar, 174 familyaya ait 1251 cins içerisinde dağılım göstermektedir (Baytop, 1999).

Canlı türlerinin kromozom sayısı, şekli ve büyüklüğü onun karyotipini ifade eder. Karyotipten faydalanılarak çeşitli türlerin kromozom haritaları çıkarılabilmektedir. Karyotip analizinde kromozomların kol uzunlukları, sentromerin kromozom üzerindeki konumu, sekonder boğumun bulunup bulunmaması, kromozomların bant özelliği, radyoizotoplarla işaretlenmiş nükleotidlerin kalıtımı ve DNA tekrarlarının belirlenmesi gibi özellikler ortaya konmaya çalışılır.

Bu tez çalışmasında halk arasında yurt tülü başı olarak da bilinen *Psephellus turcisus* türünnün kromozom sayısının belirlenmesi ve bazı biyolojik aktivitelerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Psephellus Cass. cinsinin taksonomisi için birçok fikir öne sürülmüştür (Greuter. 2003; Wagenitz, vd. 2000; Aydin, vd. 2013; Wagenitz, vd. 1998; Susanna vd. 2006; Garcia-Jacas, vd. 2000; Barres, vd. 2013; Bona, 2015; Ferrer-Gallego, vd. 2016; Bruno, vd. 2013). İlk olarak *Centaurea* L. cinsi altında alt cins olarak belirlenmiş, daha sonra Asteraceae familyasına ait ayrı bir cins olarak ele alınmıştır. Bu değerlendirmede göz önünde bulundurulan özellikler anatomik, morfolojik, palinolojik ve karyolojik incelemeler neticesinde ortaya çıkmıştır. Bu incelemelere göre *Centaurea* cinsine ait olan 12 seksiyon da *Psephellus* cinsi içerisine dahil edilmiştir (Greuter. 2003; Wagenitz, vd. 2000; Aydin, vd. 2013; Greuter, 2003).

Psephellus türlerinin çoğu endemik ve dar yayılışlı olduğundan dolayı halkımız tarafından herhangi bir kullanımına rastlanmamıştır. Bu nedenle en yakın cins olan *Centaurea* türlerine çok benzediğinden dolayı bu cinsin halk arasında kullanımı dikkate alınmıştır. *Centaurea* cinsi halk içinde değişik isimlerle adlandırılmaktadır. Bu adlara örnek; çalı süpürgesi, sarıdiken, gökbaş, kaynanadili, peygamber düğmesi, acımık otu, çobangalgıdan, mavi süpürge çiçeği, peygamber çiçeği, gelindili, zerdali dikeni, çoban dikeni, çoban çökerten, yandak dikeni, deniz geveni, kavgalaz dikeni, çandır dikeni, deve dikeni, deligöz dikeni, yabani diken, eşek dikeni, çakır diken, eşek çalısı ve isimleri verilebilir (Tuzlacı 2006, 2007; Güner vd., 2012).

Centaurea türleri, üstünde yapılan etnobotanik çalışmalar incelendiğinde; gıda ve hayvan yemi olarak tüketilen, böcek ve yılan ısırmalarına karşı, yara tedavi edici, böbrek taşı dökücü olarak, mide ağrılarını tedavisinde, soğuk algınlığı, hemoroit ve iltihap tedavilerinde kullanılabilen türleri olduğu bildirilmiştir. (Honda, vd. 1996; Erol, vd. 1997; Yeşilada, vd.1999; Sezik, vd. 2001; Kültür. 2008; Akkol, vd. 2009; Özçelik, vd. 2009; Cakilcioglu, vd. 2010; Özüdoğru, vd. 2011; Akan, vd. 2013; Sargın, vd. 2013; Kaval vd. 2014).

Centaurea türlerinden bazıları halk içerisinde tedavi edici özelliğinden ötürü kullanılmaktadır. Çok çeşitli ve geniş spektruma yayılan tedavide olumlu etkileri ile *Centaurea* taksonları kuvvet verici, antidiyabetik, antidiyareik, antipiretik, göğüs yumuşatıcı, adet getirici ve iştah açıcı olarak; böbrek ve karaciğer hastalıklarının tedavisinde, nefes daralmasında; baş, boğaz ve göz ağrılarında; sıtma hastalığında; ülser

tedavisinde; yılan ve akrep sokmalarında; sinüs tedavisinde; göz şişliklerinin tedavcisinde; siğillerin giderilmesinde kullanılmaktadır (Baytop, 1999; Djeddi vd. 2008; Güneş vd. 2011; Polat vd. 2013; Korkmaz vd. 2016; Güneş vd. 2017).

Başkaca *Centaurea* türleri üstünde daha önceden yapılmış olan çalışmalarda da; yukarıda belirtmiş olduğumuz etnobotanik kullanımlarını destekleyen antiülserojenik, antiinflamatuvar, antipiretik ve antimalaryal etkilerinin yanı sıra, antispazmodik (özellikle düz kaslar üzerinde), antimikrobiyal, antiviral, sitotoksik, hipoglisemik, nörotoksik, vazodilatör, immunolojik ve antinosiseptif etkilere sahip türler rapor edilmiştir (Ali, vd. 1987; Barrero, vd. 1997; Wei, vd. 1997; Vázquez, vd. 1997; Orallo, vd.1998; Vajs, vd. 1999; Akkol, vd. 2009; Bakr, vd. 2016; Radan, vd. 2017).

Bunun yanı sıra yine *Centaurea* türlerinin allelopatik özelliklerine ek olarak; antioksidan, analjezik, bakteriyostatik, diferensiyal esteraz, antifungal, antiproteoazomal, larvisidal, anti-platelet, aldoz-redüktaz, antiülserojenik, gastroprotektif ve asetilkolin esteraz inhibitör aktivitelerine sahip olduğu gösterilmiştir. (González, vd. 1980; Lonergan, vd. 1992; Kumarasamy, vd. 2002; Gürbüz, vd.2007; Lazari, vd. 2008; Djeddi, vd. 2008; Gülcemal, vd. 2010; Radić, vd. 2010; Pollock, vd. 2011; Khan vd. 2011; Khanavi, vd. 2011; Pirvu, vd. 2012; Park. 2012; Aktumsek, vd. 2013).

Psephellus adjaricus ve *Psephellus dealbatus* türlerinin de içerisinde olduğu 12 *Centaurea* türü ile yapılmış olan antiinflamatuvar aktivite çalışmasında ise bu türlerden hazırlanan n-hekzan ekstrelerinin COX-1 ve COX-2 enzimlerine karşı yüksek inhibitor aktivite gösterdiği bulunmuştur (Csupor vd., 2013).

Kimyasal içerik olarak ise *Centaurea* cinsine ait olan türler gayanolit, germakranolit, elemanolit ve ödesmanolit yapılarındaki seskiterpen lakton bileşikler, çok sayıda metoksil ve hidroksil grubu taşıyan flavonoitler ve lignanlar içerirken (Stevens, 1982; Gonz'alez, vd. 1981; Twaij, vd. 1983; Picher, vd. 1984; Oksüz, vd. 1984; Litvinenko, vd. 1988; Fernandez, vd. 1989; Christensen, vd. 1991; Cardona, vd. 1991; Al-Easa, vd. 1992; Bastos, vd. 1994; Skaltsa, vd. 1999; Karamenderes, vd. 2007; Erel, vd. 2011; Ifantis, vd. 2013; Astari, vd. 2013; Demir, vd. 2016; Demir, vd. 2017), *Psephellus* cinsine ait olan türler de yine seskiterpen lakton bileşikler, flavonoitler ve lignanlar bulunmuştur (Nowak, vd. 1986; Nowak, 1992; Baykan-Erel, vd. 2010; Nowak, 2014).

2.1. Asteraceae Familyasının Genel Özellikleri

Çalılar, yarı çalılar veya otlar, nadiren ağaçlar. Yapraklar genellikle almaçlı, nadiren halka dizilişli veya karşılıklı, bütün, parçalı veya dişli, stipullu veya stipul gibi genişlemiş saplı. Çiçekler tek eşeyli veya erdişi, nadiren üç evcikli, tek veya çok simetrili; (3-)5-(-6)-parçalı, az veya çok sayıda, başakta veya kapitulumda toplanmış, tek veya çok serili brakteye sahip bir involukrum tarafından sarılmış. Kapitula tek veya birkaçtan çoğa kadar, bir rasem, simöz, karimbos, panikula veya başakta; çiçek tablası dışbükey veya düz, palealı veya değil, tüylü veya değil, areolat veya değil. Kaliks genellikle kıl gibi pappusa veya paela pullarına indirgenmiş. Korolla genellikle tüpsü veya tek simetrili veya radiat, dilsi veya iki dudaklı. Kapitula radiat veya tüpsü, homogam. Çiçekler dilsi veya tüpsü veya heterogam; en dış birkaç tanesi dilsi ve dişi; en iç birkaç tanesi erdişi ve tüpsü. Stamenler 4-5, korolla tüpünün iç kısmına bağlı; filamentler genellikle serbest; anterler genellikle bir tüp şeklinde birleşmiş, tabandan bağlı, sivri veya küt, kuyruklu, sagittate veya yuvarlağımsı. Stilus uçta ve iki parçalı, stilus kolları ekli veya değil. Ovaryum alt durumlu, tek gözlü ve tek tohum taslaklı. Meyve aken ve açılmaz. Tohum dik albüminsiz, genellikle iki çenekli ve nadiren tek çenekli embriyo dik (Jeffrey, 2007).

Dünya genelinde (tropik bölgelerde nadir) yaklaşık 1535 cins ve 25000-30000 tür içermektedir (Jeffrey, 2007). Türkiye'de 138 cins ve 1186 tür ile temsil edilir (Wagenitz, 1975; Davis vd., 1988; Güner vd.2012).

2.2. *Psephellus* Cinsinin Özellikleri

Çok yıllık bitki olup, gövde dik veya yukarı doğru yükselmiş ve birkaç orta büyüklükte kapitulum mevcut. Yapraklar daima yoğun olarak gri veya beyaz altta sık yumuşak tüylü veya ince yumuşak tüylü. Değişebilen bir formu vardır fakat alttakiler en azından kısmen kemansı veya 1-2 pinnatistec (lopları ayanın orta damarına kadar derin olan yaprak). İnvolukrum yumurtamsıdan küremsiye doğru. Appendajlar zarımsı, üçgenimsiden yumurtamsıya kadar, kirpikli, fakat asla bir dikencik ya da göze çarpan bir dikenle son bulmaz. Çiçekleri gülpembemsi-morumsu, kırmızı, kenardakiler genellikle kuvvetli ışın yayar ve verimsizdir. Akenler orta büyüklükte olup, papus çok kısa (içteki sıra farklı değil) ve düşücüdür.

2.2.1. Türkiye'nin *Psephellus* Türleri

Psephellus cinsi, Centaureinae alt oymağı içerisinde yer alır ve son zamanlarda *Centaurea* cinsinden ayrılarak cins kategorisine alınmıştır (Wagentiz & Hellwig, 2000). *Psephellus* cinsi, ülkemiz dışında, Ukrayna, Kırım, Kafkasya, İran ve Batı Sibirya'da yayılış gösterir. Ülkemizde 7 seksiyon içerisinde 34 taksonla temsil edilen cins, tüm dünyada 12 seksiyon ve 100 civarında takson içerir (Jeffrey, 2007). Ülkemizdeki 28 takson endemiktir ve cinsin endemizim oranı %82'dir (Güner vd. 2012; Doğan vd. 2015).

Psephellus turcicus Duran & Hamzaoğlu (yurt tülübaşı) Yozgat ili Aydıncık ilçesi Kazankaya kanyonunda türün otörleri tarafından toplanmıştır ve 2005 yılında bilim dünyasına tanıtılmıştır. Türün "Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı" tehlike kategorisi CR (çok tehlikede) olarak rapor edilmiştir (Duran & Hamzaoğlu, 2005).

2.3. *Psephellus turcicus* Türürünün Morfolojik Özellikleri

Psephellus turcicus A.Duran & Hamzaoğlu (Yurt Tülübaşı) Yozgat ili Aydıncık ilçesi Kazankaya kanyonundan türün otörleri tarafından toplanmış ve 2005 yılında bilim dünyasına tantılmıştır.

Psephellus turcicus, çok yıllık, tabanı odunsu, az gövdeli otlar olup. Gövde dik, seyrek tüylü, 20-40 cm boyunda bir bitkidir. Yapraklar genellikle tabana bölgesinde, taban ve alt gönde yapraklar yapısal olarak şertsiden şeritsi mızraksıya kadar, genellikle tam, nadiren 1 -2 düzensiz parçalı, 2,5-8(-12) cm boyunda ve 2-6 mm eninde flokkoz-tomentoz tüylü; üst gövde yaprakları taban yapraklarına benzer fakat daha ince daha küçük olup sapsızdır, 0,5-6 cm boyunda, 1-2 mm eninde. Kapitula tek, radyant, 18-26 mm boyunda İnvolukrum ters yumurtamsı, 13-17 x 8-12 mm, Fillariler kiremitsi dizilişli, zarımsı kenarlı; dış fillariler oblong, 1-2 x 1,5-2 mm, appendajlar 3-3,5 x 4-4,5 mm; orta fillariler oblong, 5-7 x 2-2,5 mm, appendajlar 4-5 x 3,5-4 mm; iç fillariler şeritsi oblong-şeritsi mızraksı 7-9 x 1-2mm, appendajlar 4,5-6 x 1-1,5 mm. Appendajlar genellikle fillarileri tabana kadar örter, dekurrent değil, membransı, ortası saman renginde kahverengimsi, appendajların her birinde 8-15 silli, siller 1-1,5 mm uzunluğunda 1-1,5 mm uzunluğunda dikensi bir çıkıntıyla son bulur. Çiçekler morumsu-pembemsi; kenardakiler içtekilerden uzun, 17-22 mm uzunluğunda, infundibular, 5-6 şeritsi-mızraksı loblu, loblar 5-7 mm uzunluğunda; sitiluslar 8-11 mm uzunluğunda ve staminodlardan uzun; merkezi çiçekler erdişi, 13-16 mm uzunluğunda, 5- loblu, loblar 4-5 mm boyunda; merkezi çiçeklerin anterleri korolla kadar, sitiluslar korolladan uzun. Akenler genişçe oblong 4-5,5 mm boyunda, saman

renginde, düz, parlak, tüysüz; Pappus barbellat, kahverengimsi–koyu pembemsi veya nadiren zaman renginde, çift serili, dış seri, 6 mm'ye kadar boyunda, iç seri, 2-3 mm boyundadır.

2.3.1. *Psephellus* Cinsinin Tıbbi ve Ekonomik Önemi

Psephellus türlerinin çoğu endemik ve dar yayılışlı olduğundan dolayı halkımız tarafından herhangi bir kullanımına rastlanmamıştır. Ayrıca çok sınırlı kullanımları olsa bile en yakın cins olan *Centaurea* türlerine çok benzediğinden dolayı ayrı bir değerlendirme yapılmamıştır.

2.3.2. *Psephellus turcicus* Türünün Biyolojik Özellikleri (Yaşam Evresi)

Mayıs ayı sonu itibari ile çiçeklenmeye başlayarak Temmuz ortalarına kadar devam edebilmektedir. Temmuz-Ağustos aylarında ise olgunlaşmış tohumları üzerinde görmek mümkündür.

2.3.3. Çiçek ve Tohum Verimi

Psephellus turcicus her kapitulumda ortalama 12-20 tüpsü çiçek içermekte ve yine her kapitulumda ortalama 10 olgun aken ortaya çıkmaktadır. Akenlerin çimlenme kapasiteleri nitelik kazanmamıştır. Olgunlaşma ile kapitulumlar açılmakta ve akenlerini dökmektedir.

2.4. Türün Bölgedeki Durumu

Tür yayınında türün kategorisi CR'dir. Yani çok tehlikede kategorisinde yer alır. (Duran & Hamzaoğlu, 2005; IUCN, 2001). Türün tehlike kategorisi üzerinde herhangi bir güncelleme yapılmamıştır.

2.4.1. *Psephellus turcicus*'un Yaşam Alanına İlişkin Flora ve Vejetasyon Özellikleri

Tür yüksek eğimli kalker kaya çatlaklarında yayılış gösterir.

2.4.1.1. Yaşam Alanı (Habitat)

Psephellus turcicus Yozgat ili Aydıncık İlçesi Kazankaya kanyonunun içinde 730 m yükseklikte, vadinin batı kesiminde ise 1120 m'ye kadar sınırlı bir yayılışa sahip olup lokal endemik bir türdür. Kalker ana kayada kaya çatlaklarını tercih etmektedir.

2.4.1.2. *Psephellus turcicus* Türünün Dağılımı ve Nüfusu

Psephellus turcicus Yozgat ili Aydıncık ilçesi Kazankaya kanyonunun içinde 730 m yükseklikte, vadinin batı kesiminde ise 1120 m'ye kadar olup çok sınırlı bir yayılışa sahiptir. Yozgat ili Aydıncık İlçesinde tek lokalitede 0,51 km²lik alanda çok dar bir yayılışa sahiptir.

2.5. Tehditler ve Sınırlayıcı Faktörler

Yapılan arazi çalışmaları sonucunda, *Psephellus turcicus* türünün ve habitatının üzerindeki tehditler, bu tehditler, bu tehditlerin etkileri ve tehdit düzeyleri değerlendirilmiştir. Tür üzerinde doğrudan bir tehdit bulunmamakla birlikte habitat (yaşam alanı) üzerindeki tehditler bölgede yapılmış ya da yapılması muhtemel madencilik faaliyetleri, HES veya baraj yapımı, bölgede yapılabilecek yol genişletme çalışmaları olabilir.

Psephellus turcicus, yaşam alanı olarak kalker kaya çatlaklarını tercih etmekte ve bu habitatlarda yayılış göstermekte, fakat türün popülasyonunun yer aldığı bu bölgede daha önceki yıllarda mermer ocağı kurulmuş ve belirli bir süre faaliyet göstermiştir. Bu faaliyetler sonucu söz konusu maden ocağı alanındaki bazı kayalar kesilmiş ve bitkinin habitatının bir kısmı ortadan kaldırılmıştır ve daha sonraki yıllarda mermer ocağının faaliyetine son verilmiştir. Mermer ocağı kayaları, kaya üzerinde yaşayan türün habitatını tamamen yok edebilmesi sebebi ile ciddi tehdit oluşturmaktadır. Diğer bir tehdit ise vadiye olası bir baraj yapılması halinde alanın su altında kalmasıdır. Bu kapsamda öncelikle türün sınırlı yayılışa sahip olduğu Yozgat ilinin Aydıncık ilçesinde tarafımızca öneride bulunulmuş olup koruma öncelikli alanlarda madencilik ve diğer faaliyetlerin sınırlanması gerekliliği ortaya konmuştur.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Bitki Materyali Ve Kullanılan Kimyasallar

3.1.1. Bitkisel Materyal

Psephellus turcicus Yozgat ilinin Aydıncık ilçesinde bulunan Kazankaya kanyonunun eski mermer çıkarma bölgesinden temin edilmiştir. Kurutulduktan sonra bitkinin toprak üstü kısımları kullanılmıştır.

3.1.2. Kullanılan Aletler

Rotavapor (Ilmvac vakum pompası, Heidolph Laborat 4000 efficient)

Liyofilizatör (Labconco Freezone 4.5)

Ultrasonik banyo (Elma S 100H Elmasonic)

Su banyosu (Memmert)

Vorteks karıştırıcı (Velp scientifica)

Spektrofotometre (Shimadzu UV-1800)

Mikroplaka okuyucu (Biotek Synergy HT)

3.2. Deneysel Çalışma

3.2.1. Ekstrelerin Hazırlanışı

Tez çalışmasının kimyasal içerik ve hücre kültürü kısımları Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi laboratuvarlarında ikinci tez danışmanı gözetiminde yapılmıştır.

Bitkinin 100 g toprak üstü kısmına % 80'lik metanol eklenip 24 saat masere edildi ve dört kez ekstre edildi. Ekstreler birleştirildi ve rotavaporda (vakum altında 37-38 ºC) yoğunlaştırıldı. Daha sonra liyofilize edilen tüm ekstreler, analiz edilinceye kadar -18 ºC'de muhafaza edildi.

%80 Metanol ekstresi, %10 metanol içeren suda disperse edildikten sonra sırasıyla kloroform, etilasetat ve butanol ile fraksiyonlandı. Elde edilen fraksiyonlar ve geriye kalan suda disperse edilmiş kısım rotavaporda yoğunlaştırıldıktan sonra liyofilize edildi.

Bitkinin toprak üstü kısmının 10g'ı hekzan ile dört kez 24'er saat süreyle masere edilerek hekzan ekstresi hazırlandı. Vakum altında rotavaporda yoğunlaştırıldı ve liyofilize edildi.

3.2.2 Kimyasal Kompozisyon Analizleri

Kimyasal analiz aşamasında, ekstreler total fenol ve total flavonoit içeriği yönünden spektrofotometrik analize tabi tutuldu.

3.2.2.1. Total Fenol Miktarı

Total fenol miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi ile gallik asite eşdeğer olarak hesaplandı (Singleton vd. 1999). Distile su (6 mL), örnek çözelti (100 µL) ve Folin-Ciocalteu reaktifi (500 µL) bir kaba içerisine eklendi ve bir dakika sonra %20'lik sulu Na_2CO_3 (1,5 mL) ilave edilerek 10 mL'ye tamamlandı. Ekstre içermeyen reaktif kontrol grubu olarak kullanıldı. İnkübasyon aşaması 25 ºC'de 2 saat boyunca gerçekleştirildi ve daha sonra 760 nm'de absorbans ölçüldü. Gallik asit kalibrasyon eğrisi ile karşılaştırılarak, total fenolik madde miktarı gallik asite eşdeğer olarak hesaplandı. Deneyler üç tekrarlı şekilde gerçekleştildi; sonuçlar bu tekrarların genel ortalamasından elde edildi.

3.2.2.2. Total Flavonoit Miktarı

Ekstrelerin içeriğindeki total flavonoit analizinde, Zhishen vd. (1999)'nın yöntemi modifiye edilerek kullanıldı (Zhishen vd. 1999). Buna göre 1 mL ekstre t=0. dakikada % 5'lik $NaNO_2$ (0.3 mL) çözeltisi ile karıştırıldı. t=5. dakikada % 10'luk $AlCl_3.6H_2O$ (0.3 mL) çözeltisi ilave edildi, daha sonra t=6. dakika'da 1 M NaOH (2 mL) çözeltisi eklendi ve su (2,4 mL) ilave edilerek karıştırıldı. Köre karşı absorbans değeri 510 nm'de ölçüldü. Total flavonoit miktarları kateşine eşdeğer mg $_{CE}/g_{ekstre}$ biriminden hesaplandı. Kateşinin kalibrasyon eğrisi aynı şekilde etanol kullanılarak hazırlandı. Deneyler üç tekrarlı şekilde gerçekleştildi; sonuçlar bu tekrarların genel ortalamasından elde edildi.

3.2.3. Antioksidan Aktivite

3.2.3.1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil ($DPPH^{\bullet}$) Radikalini Süpürücü Etki Tayini

Bitki ekstrelerinin ve standart maddelerin serbest radikali giderim aktiviteleri DPPH serbest radikali kullanılarak belirlendi (Gyamfi vd., 1999).

Tris-HCI tamponu (50 nM, pH 7,4) ve 0,1 mM metanolde (1mL) hazırlanmış 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil çözeltisi ($DPPH^{\bullet}$) ile karıştırıldı. Kontrol grubu olarak ekstre içermeyen reaktif karışımı kullanıldı. Karanlıkta, oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi ve absorbanslar 517 nm'de okundu. İnhibisyon yüzdesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı. IC_{50} değerleri nonlineer regregasyon eğrileri kullanılarak (Sigma Plot 2001 versiyon 7.0, SPSS Inc., Chicago IL) hesaplandı. Analizler dört tekrarlı şekilde gerçekleştildi; sonuçlar bu tekrarların genel ortalamasından elde edildi.

3.2.3.2. 2,2'-azino-bis (3- etilbenzathiazolin-6- sulfonik asit) ($ABTS^{+\bullet}$) Radikalini Süpürücü Etki Tayini

Ekstrelerin $ABTS^{+\bullet}$ radikalini süpürücü etkilerine bakıldı (Re R.ve Ark., 1999). $ABTS^{+\bullet}$ radikali (7 mM) ABTS'in sulu çözeltisi ile $K_2S_2O_8$ (2,45 mM, son konsantrasyon)' un karanlıkta 12-16 saat bekletilmesiyle meydana getirildi ve absorbansı oda sıcaklığında 734 nm'de 0,700 (± 0,030) olacak şekilde ayarlandı. Bu şekilde hazırlanan radikal çözeltisi (990 µL) ile ekstre çözeltileri (10 µL) karıştırıldı ve 734 nm'de 1 dakikalık aralıklarla 30 dakika süresince reaksiyon kinetiği ölçüldü. Konsantrasyona karşı ölçülen inhibisyon yüzdeleri Troloks'a eşdeğer olarak (TEAC) hesaplandı. Analizler üç tekrarlı şekilde gerçekleştildi; sonuçlar bu tekrarların genel ortalamasından elde edildi.

3.2.4. Hücre Kültürü Çalışmaları

Bu çalışmada A549 ATCC CCL-185 (İnsan Akciğer Kanser Hücresi) ve MDA-MB-231 ATCC® HTB-26™ (insan meme kanseri hücre hattı) kullanıldı. Hücreler 37°C'de CO_2'li inkübatör içerisinde, delikli hücre kültür kapları içerisinde bekletildi. Besi yerleri iki gün aralıklarda değiştirildi. Çoğalan hücreler -80°C'de muhafaza edildi.

3.2.4.1. A549 ve MDA-MB-231 Hücrelerinde Sitotoksik Etkinin MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid] Testi ile Belirlenmesi

Hekzan ekstresinin, %80'lik metanol ekstresinin, klorofom, etilasetat, *n*-butanol ve su fraksiyonlarının A549 ve MDA-MB-231 hücreleri üzerindeki sitotoksisitesi MTT kolorimetrik yöntemle belirlendi. Hücreler, DMEM besi yerinde çoğaltıldı. Çalışmadan 24 saat önce flasktaki hücreler sayılarak 96 kuyucuklu mikroplağa kuyucuk başına 100 µL'de 10 000 hücre olacak şekilde ekim yapıldı. 24 saat sonunda plağa yapışmış olan hücrelerin üstündeki besi yerleri atıldı ve besiyerinde seyreltilerek hazırlanan ekstreler 3,906-1000 µg/mL aralığında düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru 100 µL alınarak plağa eklendi ve 37 °C'de karbondioksitli etüvde 24 saat bekletildi. Steril PBS içerisinde hazırlanan stok MTT solüsyonundan, 0,5 mg/mL MTT çalışma solüsyonu hazırlandı ve 96 kuyucuklu plaklara ilave edildi. İnkübatörde 3 saat bekletildikten sonra plaktaki besiyeri boşaltılarak 100 µL DMSO eklendi. 5 dk çalkalandıktan sonra plakalardaki hücrelerin optik dansiteleri ELISA cihazında (Bio-Rad, ABD) 540 nm dalga boyunda okutuldu. Kontrol kuyucukları okutularak elde edilen absorbans değerlerinin ortalaması alındı ve bu değer %100 canlı hücre olarak kabul edildi. Çözücü ve ekstre uygulanan kuyucuklardan

elde edilen absorbans değerleri kontrol absorbans değerine oranlandı ve yüzde canlılık olarak kabul edildi.

3.2.5. *Psephellus turcicus* türünün Kromozomları

3.2.5.1. Kromozom Analiz Yöntemi

Tez çalışmasının sitogenetik çalışmaları Yozgat Bozok Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Sitogenetik Araştırma Laboratuvarında yürütüldü. Çalışma kapsamında, *Psephellus turcisus* bitkisine ait tohumlar, petri kapları içerisinde, ıslak whatman kurutma kâğıtları üzerinde oda sıcaklığında çimlendirildi. Çimlenen tohumların kök uçları 0.5-1 cm uzunluğa erişince kesilerek eppendorf tüplerine aktarıldı.

3.2.5.2. Ön İşlem

Ön işlem uygulaması ile iğ ipliklerinin oluşumu önlenir ve bu şekilde metafaz aşamasındaki hücrelerin sayısının artması sağlanır. Bu şekilde kromozomların açık bir şekilde görülmesi sağlanır. Ön muamele malzemeleri olarak, α-monobromonaftalin kolşisin ve hidroksikinolin çözeltileri kullanılmaktadır (Najafi, 2012). Çalışmamızda, kök uçları α–monobromonaftalin çözeltisinde 4°C'de 16 saat ön işleme tabi tutuldu.

3.2.5.3. Materyalin Tespiti

Ön muamele uygulaması, hem hücrelerin hem de kromozomların bozulmasına neden olabilir. Bu nedenle fiksasyon aşaması önemlidir. Araştırmalarda materyal tespiti için alkol, asetik asit, kloroform-asetik asit, alkol-asetik asit gibi materyaller kullanılmaktadır. Çalışmamızda fiksasyon çözeltisi etil alkol-glasial asetik asit karışımı (3:1) kullanıldı.

3.2.5.4. Materyalin Muhafazası

Tespit işleminden sonra, kök uçları asetik asitten arındırılma amacıyla iki kez 5 dakika yıkandı. Kök uçları kullanım zamanına kadar %70'lik alkol içerisinde bekletildi.

3.2.5.5. Hidroliz

Hidroliz, hücrelerin birbirinden ayrı düşmesini, net görüntü alınmasını sağlamaktadır. Çalışmamızda hidroliz işlemi için, kök uçları 1N HCI'de ve 60°C'de 8-10 dakika bekletildi.

3.2.5.6. Mitotik Metafaz Kromozomlarının Boyanması

Boyama aşaması, % 2'lik aseto-orsein boyası içerisinde kök uçları 2 saat boyandı. Aseto-orsein hazırlanması: asetik asit (45 ml) üzerine saf su (55 ml) eklendi ve karışım yavaş bir şekilde kaynatıldı. Kaynama başlayınca, karışım üzerine 2 g orsein eklendi ve 30 dakika boyunca karıştırıldı. Boya karanlıkta muhafaza edildi.

3.2.5.7. Preparat Hazırlama ve İnceleme

Boyama işleminden sonra, kök uçlarının meristematik uç kısımları koyu viyole renginde boyandı. Köklerin en uç kısımları lam üzerinde pirinç çubuk ile ezildi ve lamel ile kapatıldı. Daha sonra kurutma kâğıdı arasına alınan preparat üzerine bir elin başparmağı ile kuvvetle bastırılarak preparatlar incelemeye hazır hâle getirildi.

3.2.5.8. Kromozomların Görüntülenmesi

Psephellus turcisus türü için, iyi dağılım gösteren 10 metafaz alanı değerlendirildi. Kromozomlar Olympus BX53 araştırma mikroskobuna bağlı DP72 dijital kamera ile görüntülendi.

3.2.5.9. Kromozomal Ölçümler ve Karyotip Analizi

Görüntüleme işleminden sonra kromozomların kısa kol, uzun kol ve total uzunluk ölçümleri KaryoType bilgisayar yazılım programı kullanılarak yapıldı. Ölçümler ile total kromozom uzunlukları, uzun ve kısa kol uzunlukları, kromozomların kol oranları belirlendi ve karyotip formülleri, sentromerik indeks değerleri ve karyotip asimetri değerleri hesaplandı. Monoploid idiyogramlar çizildi.

$$\text{Sentromerik İndeks} = \frac{\text{KISA KOL UZUNLUGU}}{\text{TOPLAM UZUNLUK}} \times 100$$

Kromozom kol oranları ve sentromerin yerine göre kromozom tipleri belirlendi. Bu belirleme işleminde, Levan vd. (1964) önerdiği kriterler kullanıldı. (Tablo 3.1.) (Levan, 1964). Karyotip asimetrilerinin hesaplanmasında bilinen tüm parametreler kullanıldı (Paszko 2006; Peruzzi ve Eroğlu 2013).

Tablo 3.1. Kromozom Tipleri

Sentromerin Konumu	Kol Oranları (Kısa kol / Uzun kol)	Kromozomun Tipi	Kromozom Sembolü
Median nokta	1.0	Median	M
Median bölge	1.0 ile 1.7	Median	m
Submedian bölge	1.7 ile 3.0	Submedian	sm
Subterminal bölge	3.0 ile 7.0	Subterminal	st
Terminal bölge	7.0 ile ∞	Terminal	t
Terminal nokta	∞	Terminal	T

4. BULGULAR

4.1. Spektrofotometrik Bileşim Analizleri

4.1.1. Toplam Fenol ve Flavonoit Miktar Tayini

Ekstrelerin toplam fenol ve toplam flavonoit miktarları deneysel kısımda verilen yöntemler kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Toplam fenol miktarları gallik asite, toplam flavonoit miktarı kateşine eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Toplam fenol içeriği 202,55 ± 3,01 mg_{GAE}/g_{ekstre} değeriyle ve toplam flavonoit içeriği 44,83± 0,45 mg_{CA}/g_{ekstre} değeriyle en yüksek içerik etilasetat fraksiyonunda bulunmuştur. Hekzan ekstresinin ise çalışılan diğer ekstreler arasında 45,51 ± 3,93 mg_{GAE}/g_{ekstre} toplam fenol değeriyle en düşük içeriğe sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Ekstrelerin toplam fenol ve toplam flavonoit miktarları

Ekstre	**Toplam Fenol [mg_{GAE}/g_{ekstre}]**	**Toplam Flavonoit [mg_{CA}/g_{ekstre}]**
Pt MeOH	126,50 ± 6,31	27,65 ± 0,41
Pt Hekzan	45,51 ± 3,93	21,47 ± 0,52
Pt Kloroform	87,93 ± 1,22	24,95 ± 0,29
Pt EtOAc	202,55 ± 3,01	44,83 ± 0,45
Pt BuOH	129,90 ± 3,01	32,89 ± 0,46
Pt Su	70,04 ± 3,01	13,91 ± 0,64

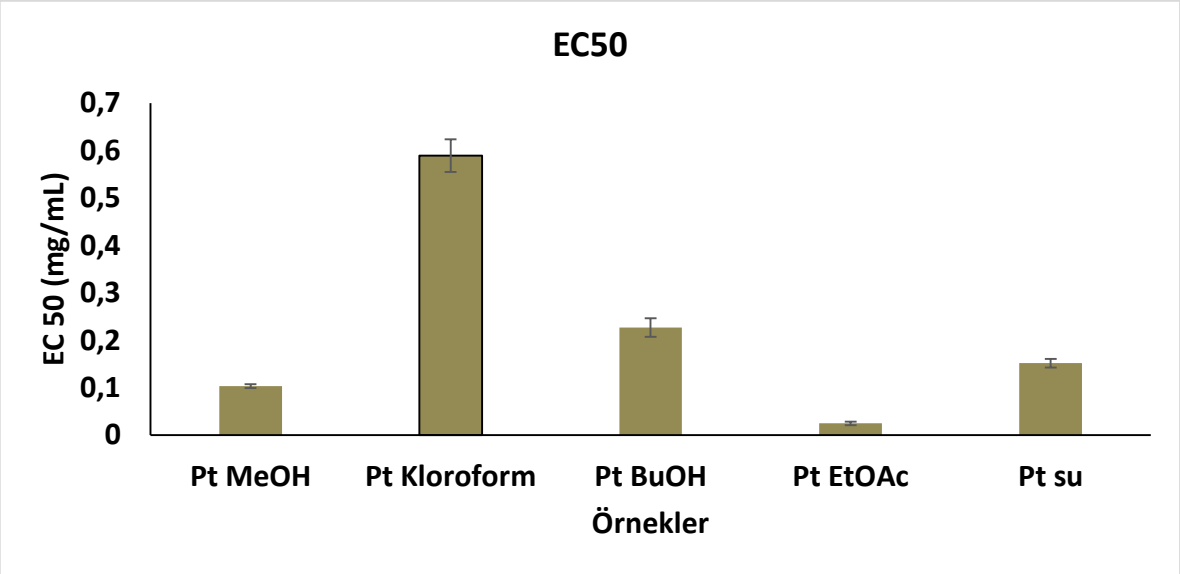
*Ortalama ± SD; n=3

4.2. Antioksidan Aktivite Çalışmaları

4.2.1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil ($DPPH^{\bullet}$) Radikalini Süpürücü Etki Tayini

Vücuttan zararlı ve hastalık yapıcı radikallerin uzaklaştırılması oldukça önemlidir. Bu amaçla örneklerin antiradikal etkilerinin ölçülmesinde azot merkezli stabil bir radikal olan $DPPH^{\bullet}$ radikali kullanılmıştır. EC_{50} değerleri, radikalin %50'sini süpürebilecek

gerekli konsantrasyon olarak tanımlanır. Küçük değer yüksek aktiviteyi gösterir. Şekil 4.1'de sonuçlar gösterilmektedir.

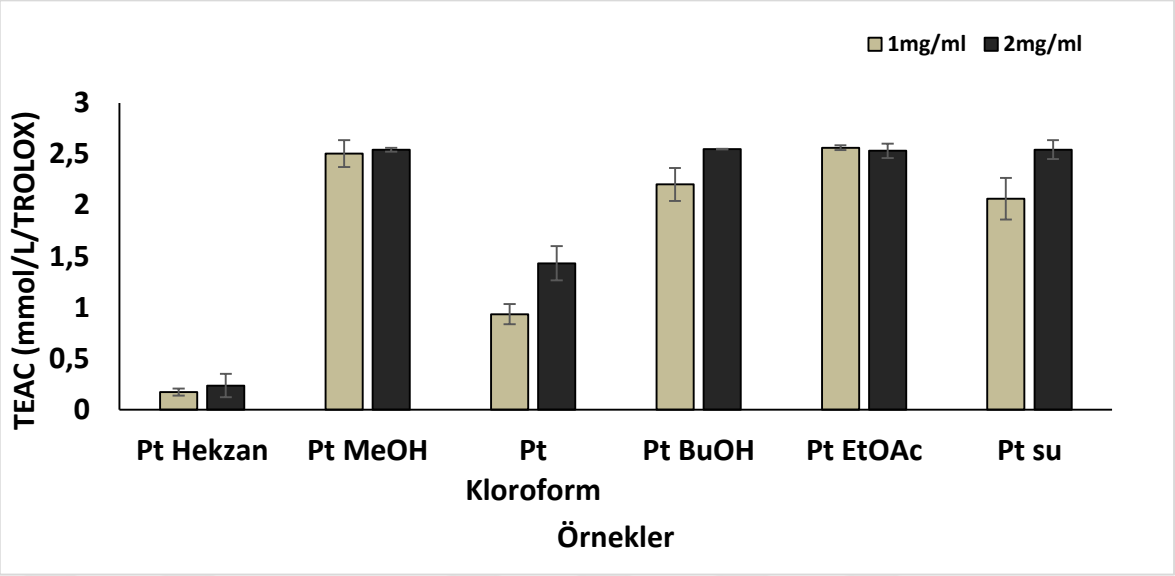


Şekil 4.1. *P. turcicus* %80 Metanol ekstresinin ve fraksiyonlarının DPPH$^{\bullet}$ radikalini süpürücü etkileri

Hekzan ekstresi 4 mg/mL konsantrasyonda %24,72 inhibisyon gösterdiği için EC50 değeri hesaplanamamıştır. Çalışılan ekstreler arasında en aktif ekstre etil asetat fraksiyonu iken en düşük aktivite kloroform fraksiyonununda bulunmuştur. Ekstrelerin EC50 değerleri 0,024-0,0589 mg/mL konsantrasyon aralığında değişmektedir.

4.2.2. 2,2'- Azino-bis (3- etilbenztiazolin-6- sulfonik asit) ($ABTS^{+\bullet}$) Radikalini Süpürücü Etki Tayini

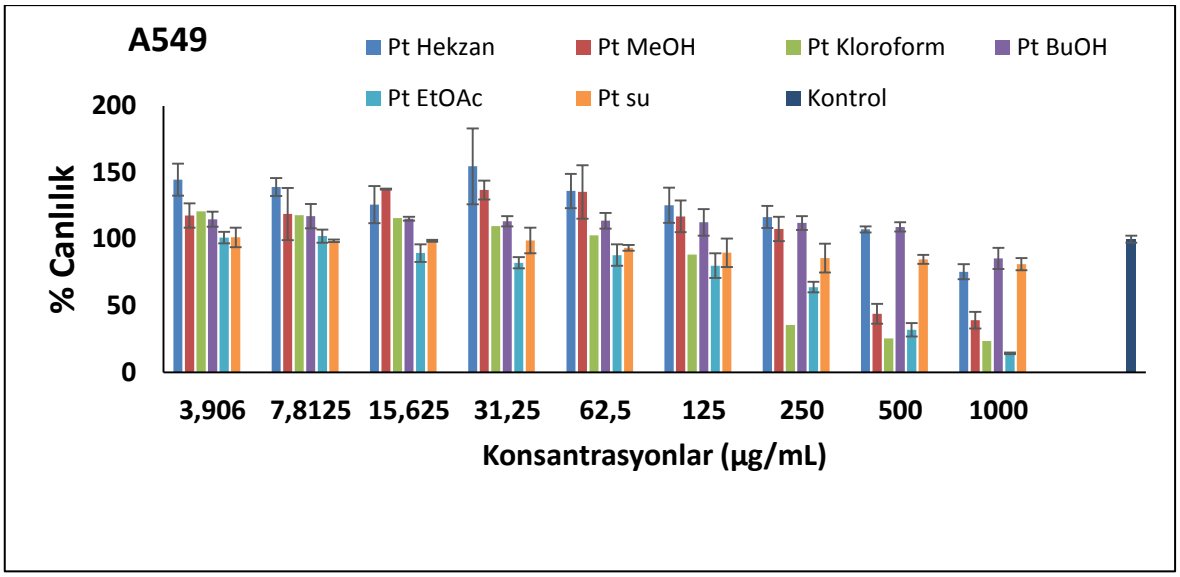
Bu yöntem mavi/yeşil renkli bir bileşik olan $ABTS^{+\bullet}$ radikali katyonu tarafından antioksidatif maddelerin miktarının spektroskopik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Bu yöntem ile flavonoitler, hidroksisinnamik asitler, karotenoitler gibi hidrofilik ve lipofilik antioksidanlar ölçülebilmektedir. Ekstreler 1 mg/mL ve 2 mg/mL konsantrasyonlarda çalışılmıştır. %80 metanol ekstresi ve bu ekstreden fraksiyonlanarak elde edilen butanol ve etilasetat fraksiyonları her iki konsantrasyonda da benzer aktivite sergilemişlerdir. Hekzan ekstresi en düşük aktiviteye sahip ekstre olarak bulunmuştur (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. *P. turcicus* hekzan ekstresi, %80 metanol ekstresi ve fraksiyonlarının $ABTS^{+\bullet}$radikalini süpürücü etkileri

4.2.3. A549 ve MDA-MB-231 Hücrelerinde Sitotoksik Etkinin MTT Testi ile Belirlenmesi

Psephellus turcicus'dan elde edilen ekstrelerin toksisitesi A549 ve MDA-MB-231 hücreleri üzerinde MTT deneyi kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar yüzde (%) olarak verilmiş ve hücre kontrol grubu canlılığı % 100 kabul edilerek diğer gruplar hesaplanmıştır. A549 hücresine ait sonuçlar Şekil 4.3 ve Tablo 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.3. *P. turcicus* hekzan ekstresi, %80 metanol ekstresi ve fraksiyonlarının A549 hücre hattında toksisiteleri. Ortalama ± SD; n=3

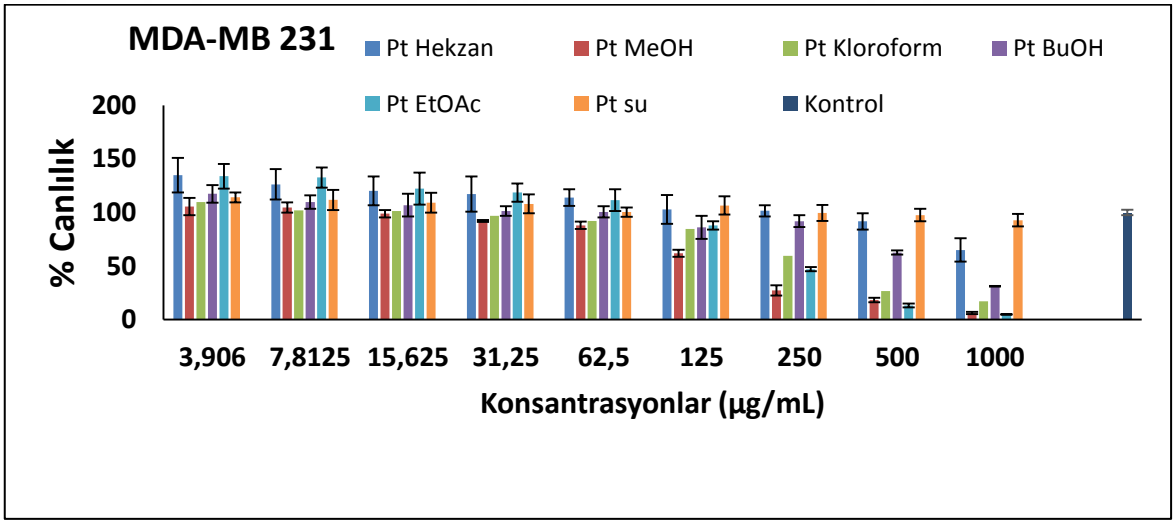
Tablo 4.2. *P. turcicus* hekzan ekstresi, %80 metanol ekstresi ve fraksiyonlarının A549 hücre hattında toksisiteleri

Konsantrasyonlar (µg/mL)									
Ekstreler	**3,906**	**7,8125**	**15,625**	**31,25**	**62,5**	**125**	**250**	**500**	**1000**
Pt Hekzan	144,74±12,00	139,20±6,78	125,95±14,03	154,72±28,46	136,21±12,85	125,50±13,23	116,61±8,32	107,35±2,35	75,50±5,61
Pt MeOH	117,70±9,16	118,87±19,62	137,57±0,31	136,93±7,16	135,48±20,12	117,15±12,01	107,62±9,18	44,01±7,43	39,11±6,31
Pt Kloroform	120,87±5,16	118,09±7,44	115,87±2,49	109,80±6,80	102,94±5,24	88,32±9,36	35,57±2,05	25,40±2,98	23,51±0,45
Pt BuOH	115,00±5,65	117,33±9,07	115,35±1,38	113,41±3,83	113,80±6,00	112,66±9,94	112,18±5,22	109,19±3,55	85,53±8,04
Pt EtOAc	101,17±4,27	102,27±4,93	89,57±6,60	82,27±4,14	88,04±8,01	80,12±9,27	63,93±3,95	31,84±5,08	14,17±0,55
Pt su	101,35±7,37	98,77±1,01	98,77±0,66	98,96±9,69	93,50±2,18	89,82±10,69	85,83±10,75	84,85±3,43	81,17±4,52

*Ortalama ± SD; n=3

Ekstrelerin A549 hücre hattına olan etkileri incelendiğinde, hekzan ekstresi çalışılan bütün kosantrasyonlarda hücre canlılığı üzerine kontrole göre anlamlı etki göstermemiştir. %80 Metanol ekstresinin 7,8-250 µg/mL konsantrasyon aralığında canlılığı %50'nin altına düşürmediği, 500 ve 1000 µg/mL konsantrasyonlarda ise hücre canlılığını %50'nin altına düşürdüğü belirlenmiştir. Fraksiyonlar arasında en güçlü etkiyi etil asetat fraksiyonu göstermiş 1000 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını% 85.83 oranında inhibe etmiştir. Kloroform fraksiyonu da 250-1000 µg/mL konsantrasyon aralığında canlılığı %50'nin altına düşürmüştür.

Ekstrelerin MDA-MB 231 hücre hattına olan toksisiteleri Şekil 4.4 ve Tablo 4.3'de gösterilmiştir.



Şekil 4.4. *P. turcicus* hekzan ekstresi, %80 metanol ekstresi ve fraksiyonlarının MDA-MB 231 hücre hattında toksisiteleri. Ortalama ± SD; n=3

Ekstrelerin MDA-MB 231 hücre hattına olan etkileri incelendiğinde, hekzan ekstresi 3,9-500 µg/mL konsantrasyon aralığında hücre canlılığı üzerine kontrole göre anlamlı etki göstermemiştir. %80 Metanol ekstresi ve etil asetat fraksiyonu 250-1000 µg/mL konsantrasyon aralığında canlılığı %50'nin altına indirmiştir. Etil asetat fraksiyonu 1000 µg/mL konsantrasyonda canlılığı %95.27 inhibe ederek aynı konsantrasyonda diğer ekstrelere göre daha güçlü bir etki göstermiştir. Geriye kalan su fraksiyonu çalışılan bütün konsantrasyonlarda canlılığı %90'ın altına düşürememiştir.

Tablo 4.3. *P. turcicus* hekzan ekstresi %80 metanol ekstresi ve fraksiyonlarının MDA-MB 231 hücre hattında toksisiteleri

	Konsantrasyonlar (µg/mL)								
Ekstreler	**3,906**	**7,8125**	**15,625**	**31,25**	**62,5**	**125**	**250**	**500**	**1000**
Pt Hekzan	134,86±16,12	126,23±14,19	120,15±13,42	117,21±16,41	113,83±7,74	102,75±13,44	101,59±5,27	91,71±7,64	65,02±10,93
Pt MeOH	105,65±8,09	104,65±4,86	98,94±3,44	91,99±0,88	87,97±3,42	61,90±3,27	27,36±4,75	18,27±2,15	6,14±1,05
Pt Kloroform	109,71±8,26	102,05±6,26	101,40±10,63	96,99±4,54	92,22±5,32	84,71±10,80	59,40±5,57	26,59±1,91	17,07±0,37
Pt BuOH	117,42±6,35	109,62±9,85	106,84±1,39	101,31±6,64	100,61±5,68	86,11±13,14	91,89±6,26	62,66±9,26	31,10±2,76
Pt EtOAc	133,88±11,50	132,63±9,53	122,23±14,95	118,65±8,48	111,59±10,19	87,87±3,94	47,05±1,93	13,08±1,79	4,73±0,33
Pt su	114,16±4,69	111,70±9,29	109,12±9,20	108,09±8,85	100,34±4,42	106,59±8,40	99,53±7,56	97,56±5,80	92,77±5,83

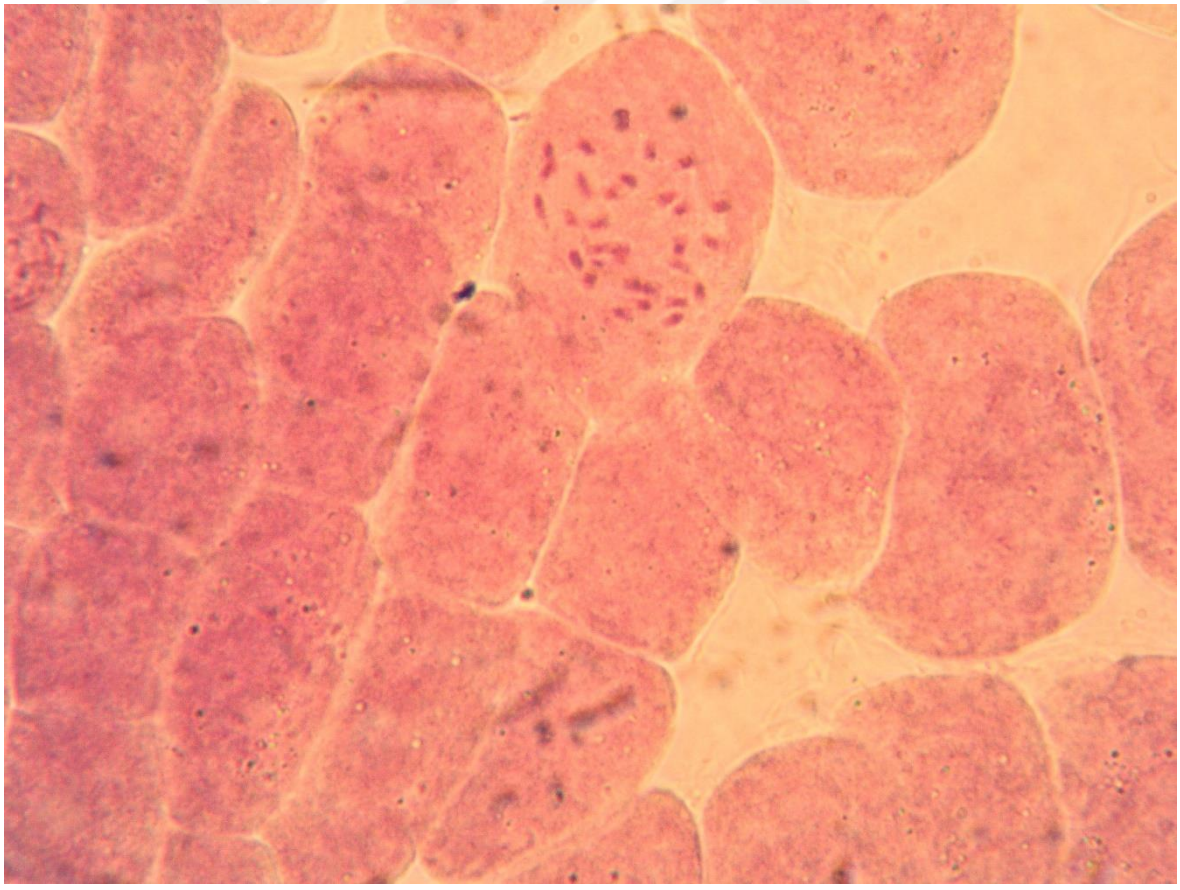
Ortalama ± SD; n=3

4.3. Kromozomal Veriler

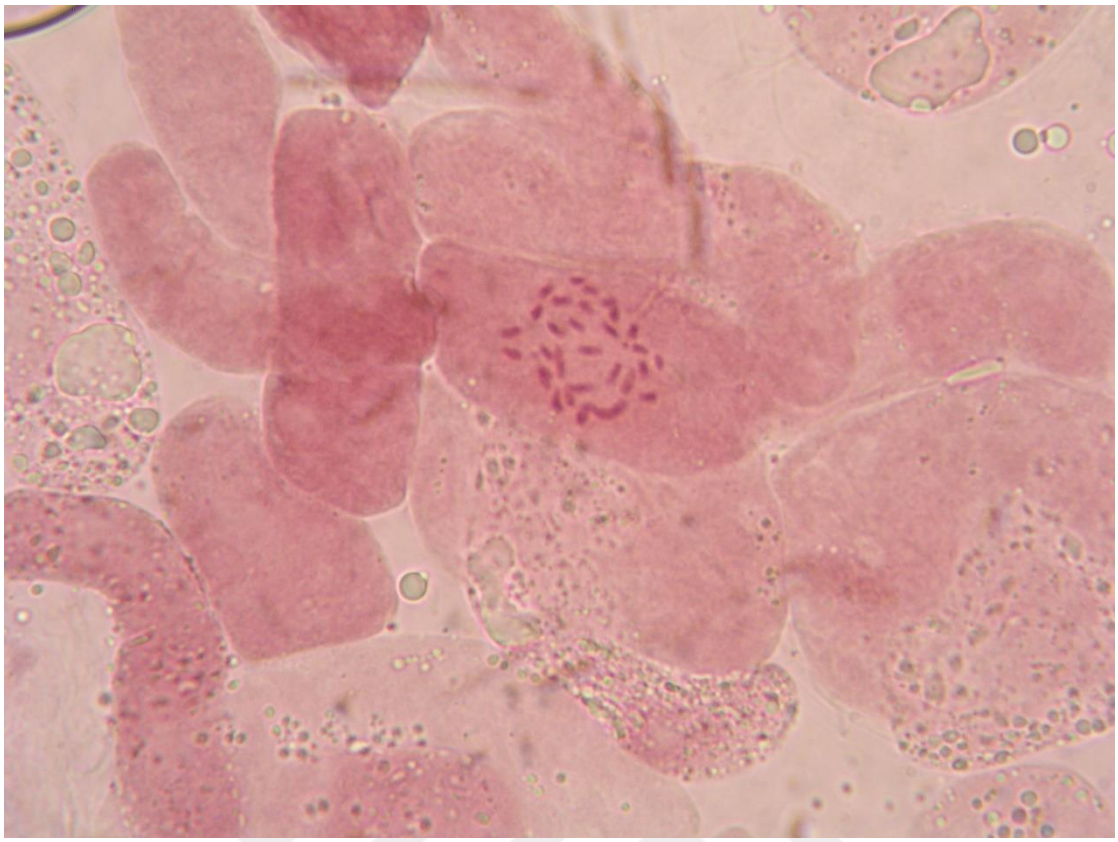
Psephellus turcisus türüne ait metafaz kromozomları Resim 4.1, Resim 4.2 ve Resim 4.3'te verilmiştir. Buna göre türün diploid kromozom sayısı ve karyotip formülü $2n = 2x = 30 = 12m + 18sm$ olarak tespit edilmiştir. Toplam haploid uzunluk 30.83 µm ve ortalama haploid uzunluk 2.06 µm uzunluğundadır (Tablo 4.4). Monoploid idiyogram Resim 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4. *Psephellus turcicus* türünün karyotip parametreleri

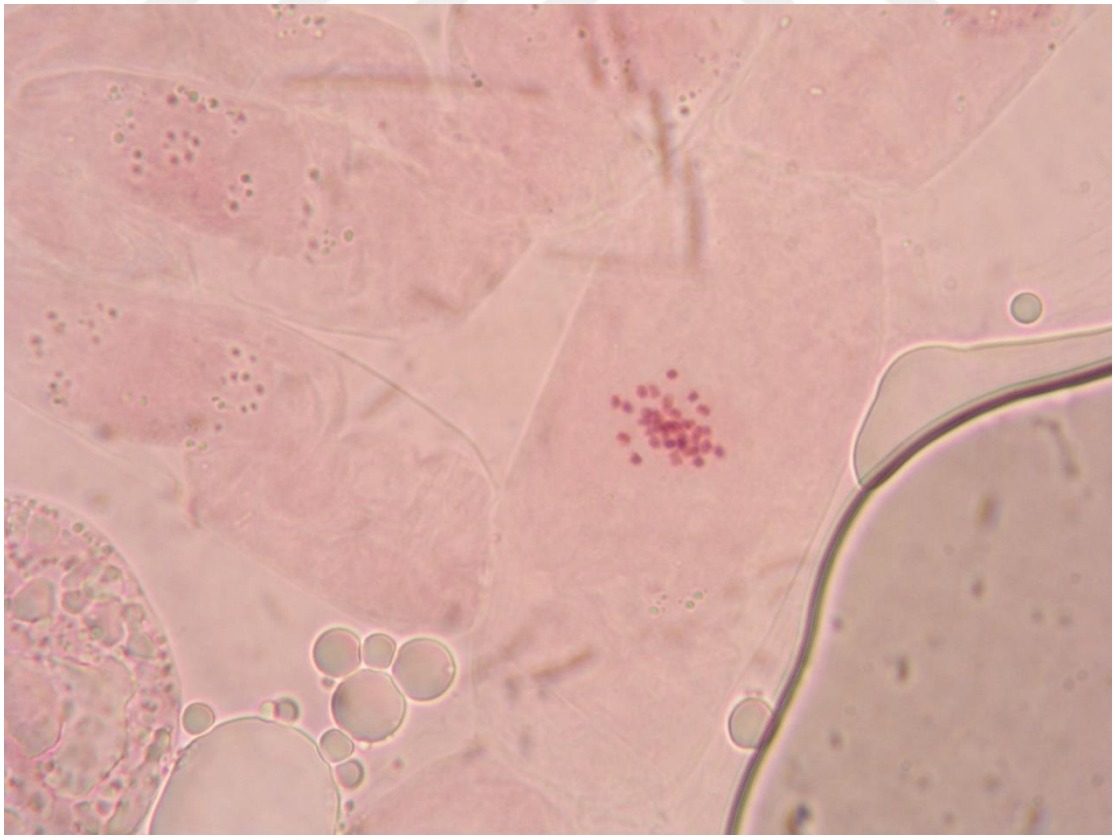
Karyotip Parametresi	
x (temel sayı)	15
2*n* (diploid sayı)	30
Karyotip formülü	12m + 18sm
Total haploid uzunluk (µm)	30.83
Ortalama haploid uzunluk (µm)	2.06



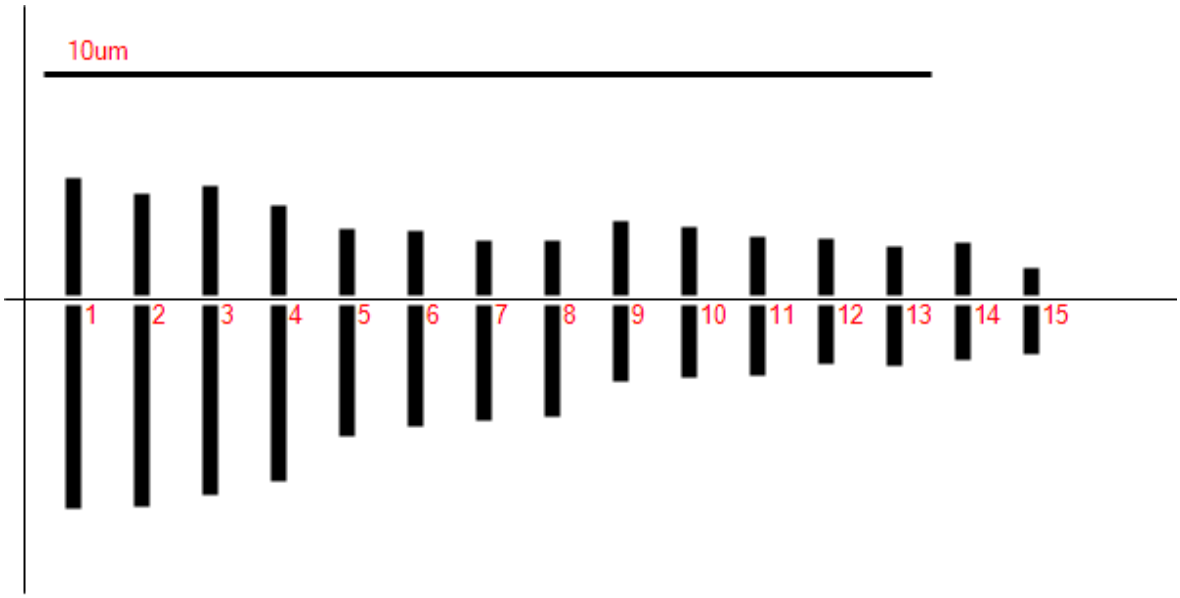
Resim 4.1. *Psephellus turcicus* Türünün Metafaz Kromozomları



Resim 4.2. *Psephellus turcicus* Türünün Metafaz Kromozomları



Resim 4.3. *Psephellus turcicus* Türünün Metafaz Kromozomları



Şekil 4.5. *Psephellus turcicus* Türünün İdiyogramı

Psephellus turcicus türünün kromozomal ölçümlerinde satellit gözlenmemiştir. En küçük kromozom 0.86 µm, en büyük kromozom 3.61 µm uzunluğundadır. En küçük kol oranı 1.02 iken en büyük kol oranı 2.08'dir. Kromozomların relatif uzunlukları %2.79 ile %11.71 arasında değişmektedir. Sentromerik indeks değerleri 32.46 ile 49.59 arasında değişmektedir. Tüm kromozomlara ait detaylı ölçümler Tablo 4.5'de verilmiştir.

Psephellus turcicus türünün karyotip asimetri değerleri sırasıyla şu şekildedir: Stebbins sınıflandırılması (2C), As K (% 61.79), TF (% 38.21), Syi (% 61.84), Rec (% 56.93), A1 (0.32), A2 (0.43), DI (16.62), A (0.21), AI (7.47), CV_{CI} (17.32), CV_{CL} (43.16) ve M_{CA} (20.54) (Tablo 4.6). Bu verilere göre türün karyotipi simetrik olmakla beraber, submetasentrik kromozomların fazla bulunmasından dolayı tam bir simetrik karyotipten bahsetmek mümkün değildir. Kromozomiçi asimetri değerlerine göre (özellikle M_{CA} değeri) karyotip simetrisi; kromozomlararası asimetri değerlerine göre (özellikle CV_{CL} değeri) daha fazladır.

Tablo 4.5. *Psephellus turcicus* türünün detaylı kromozom ölçüm verileri

Kromozom Çifti	Uzun Kol (µm)	Kısa Kol (µm)	Toplam (µm)	Kol Oranı	Relatif Uzunluk (%)	Sentromerik İndeks	Kromozom Tipi
1	2.29	1.32	3.61	1.73	11.71	36.57	sm
2	2.27	1.14	3.41	1.99	11.06	33.43	sm
3	2.13	1.23	3.36	1.73	10.90	36.61	sm
4	1.98	1.02	3.00	1.94	9.73	34.00	sm
5	1.47	0.76	2.23	1.93	7.23	34.08	sm
6	1.36	0.72	2.08	1.89	6.75	34.62	sm
7	1.29	0.62	1.91	2.08	6.20	32.46	sm
8	1.26	0.61	1.87	2.07	6.07	32.62	sm
9	0.87	0.84	1.71	1.04	5.55	49.12	sm
10	0.82	0.77	1.59	1.06	5.16	48.43	m
11	0.80	0.66	1.46	1.21	4.74	45.21	m
12	0.66	0.63	1.29	1.05	4.18	48.84	m
13	0.69	0.55	1.24	1.25	4.02	44.35	m
14	0.61	0.60	1.21	1.02	3.92	49.59	m
15	0.55	0.31	0.86	1.77	2.79	36.05	sm

Kısaltmalar: m, metasentrik; sm, submetasentrik.

Tablo 4.6. *Psephellus turcicus* türünün karyotip asimetri değerleri.

Parametre	**Value**
S Cl. (Stebbins sınıflandırması)	2C
As K (%) (karyotip asimetri indeksi)	61.79
TF (%) (toplam form yüzdesi)	38.21
Syi (%) (karyotip simetri indeksi)	61.84
Rec (%) (kromozomal boyut benzerliği)	56.93
A_1 (intrakromozomal asimetri)	0.32
A_2 (interkromozomal asimetri)	0.43
DI (dispersiyon indeksi)	16.62
A (karyotip asimetrisinin derecesi)	0.21
AI (asimetri indeksi)	7.47
CV_{CI} (sentromerik indeksin varyasyon katsayısı)	17.32
CV_{CL} (kromozom uzunluğunun varyasyon katsayısı)	43.16
M_{CA} (ortalama sentromerik asimetri)	20.54

5. TARTIŞMA

Bu çalışma kapsamında *Psephellus turcicus*'un kromozom sayısı ve toprak üstü kısmından hazırlanan ektrelerin toplam fenol ve flavonoit içeriği, antioksidan ve sitotoksik aktiviteleri incelenmiştir.

Toplam fenol ve flavonoit miktarları incelendiğinde en yüksek içeriğe etil asetat fraksiyonunun sahip olduğu, en düşük içeriğe ise hekzan ekstresinin sahip olduğu belirlenmiştir. Literatürde *Psephellus turcicus* ile yapılmış içerik çalışması bulunmayıp ilk defa bu tez kapsamında incelenmiştir. Yapılan bir çalışmada *Psephellus goeksunensis*'in metanol ekstresinde toplam fenolik içerik 19.24±0.4 GAE µg/mL, toplam flavonoit ise 34.42±1.01 QEµg/mL bulunmuştur. Bizim yaptığımız çalışmada ise metanol ekstresinde toplam fenolik miktarı 126.50±6,31 mg_{GAE}/g_{ekstre} toplam flavonit miktarı 27,65±0,41 mg_{CA}/g_{ekstre} bulunmuştur. *Psephellus goeksunensis*'in kloroform ekstresinde toplam fenolik içerik 16.00±0.86 GAE µg/mL, toplam flavonoit içerik 92.65±0.81 QEµg/mL bulunurken, bizim çalışmamızda ise kloroform fraksiyonunda toplam fenolik miktarı 87,93±1,22 mg_{GAE}/g_{ekstre} toplam flavonoit miktarı ise 24,95±0,29 mg_{CA}/g_{ekstre} olarak belirlenmiştir. *Psephellus goeksunensis*'in hekzan ekstresinde toplam fenolik içerik 10.90±1.38 GAE µg/mL, toplam flavonit içerik 71.34±1.31 QEµg/mL bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise hekzan ekstresinde toplam fenolik içerik 45,51±3,93 mg_{GAE}/g_{ekstre} toplam flavonoit içerik ise 21,47±0,52 mg_{CA}/g_{ekstre} olarak belirlenmiştir (Demiroz ve ark. 2020). Her iki türün toplam fenolik ve flavonoit içeriğinin birbirine yakın olduğu gözlenmiştir. Korkmaz ve ark.'larının çalışmasında *Psephellus huber-morathii'*nin su ve metanol ekstrelerinin toplam fenolik içeriği 3,9 ± 0,460 mg_{GAE}/g_{bitki} ve 10 ± 0,268 mg_{GAE}/g_{bitki} olarak bildirilmiştir. Çalışmada sonuçlar gram bitki üzerinden hesaplandığı için bizim içerik analizi sonuçlarımızla doğrudan kıyaslamak mümkün değildir (Korkmaz vd. 2019).

Ekstrelerin azot merkezli stabil bir radikal olan $DPPH^{\bullet}$ radikalini süpürme kapasiteleri fizyolojik pH da incelenmiş ve sonuçlar IC_{50} değerleri olarak (mg/mL) verilmiştir. IC_{50} değeri azaldıkça aktivite artmaktadır. *Psephellus turcicus* ekstrelerinin EC50 değerleri 0,024-0,0589 mg/mL konsantrasyon aralığında değişmektedir (Şekil 4.1). *Psephellus turcicus* bitkisinin toprak üsti kısmından elde edilen %80'lik metanol ekstresinden fraksiyonlanarak elde edilen etil asetat fraksiyonunun $DPPH^{\bullet}$ radikalini süpürücü etkisi (EC_{50} 0,024 mg/mL) diğer ekstrelere ve fraksiyonlara göre daha yüksek olarak bulunmuştur. Etil asetat fraksiyonunun fenolik içerik bakımından zengin olması

nedeniyle aktif bulunması literatürle uyumludur. Ekstrelerinin $DPPH^{\bullet}$ radikal süpürücü aktiviteleri şöyle sıralanabilir: Pt EtOAc> Pt MeOH > Pt Su > Pt BuOH> Pt Hekzan. *P. huber-morathii* ile yapılan bir çalışmada bitkinin su ve methanol ekstrelerinin EC50 değerleri sırasıyla 0.3379 ± 0.0049 mg/mLve 0.2073 ± 0.0036 mg/mL olarak bulunmuştur. Çalışmamızın sonuçları ile karşılaştırıldığında *Psephellus turcicus* ekstrelerinin daha düşük EC50 değerlerine sahip oldukları görülmektedir (Korkmaz vd. 2019).

En çok kullanılan antioksidan yöntemlerinden biri olan $ABTS^{\bullet+}$ / TEAC yöntemi 660, 734 ve 820 nm'de maksimum olan karakteristik uzun dalga boylu absorpsiyon spektrumu gösteren $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonunun absorbansının antioksidan tarafından inhibisyonuna dayanmaktadır (Magalhães, 2008). Yöntemde hidrojen peroksit ile metmiyoglobinin aktivasyonu sonucu ferrilmiyoglobin oluşur. Bu bileşik daha sonra 2,2-azinobis(3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit) (ABTS) $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonunun oluşmasına neden olmaktadır. Ekstre, $ABTS^{\bullet+}$ radikalleri oluşumundan önce eklenir ve antioksidan kapasitesine göre $ABTS^{\bullet+}$ radikallerinin oluşumunu azaltır (Re R, 1999 ve Tai, 2011). Bu çalışmada ise ekstrelerin ve vanilik asitin $ABTS^{\bullet+}$ radikalini süpürücü etkileri 1 ve 2 mg/mL dozlarda incelenmiştir. Bütün ekstreler 2 mg/mL dozda en yüksek aktiviteyi göstermiştir (Şekil 4.2). Bu deneyde de fenolik içeriği yüksek olan ekstreler yüksek aktivite göstermiş olup literatürle de uyum göstermektedir. Acet ve ark.'larının çalışmasında *Psephellus appendicigerus* (K. Koch) Wagenitz bitkisinden etanol, metanol, etilasetat ve hekzan ekstreleri hazırlanmış ve $ABTS^{\bullet+}$ radikalini en güçlü 63,740 ± 0,480 µg/mL değeriyle metanol ekstresinin süpürdüğü belirtilmiştir. Metanol ekstresinin DPPH radikalini süpürücü aktivitesi ise IC50: 39,280 ± 0,262 µg/mL'dir. Aynı zamanda metanol ekstresinin toplam fenolik içeriği 200,597 ± 1,299 mg_{GAE}/g_{ekstre} olarak bildirilmiş ve içeriğin diğer ekstrelerden daha zengin olduğu vurgulanmıştır (Acet vd.. 2020).

Ülkemizde yetişen *Psephellus turcicus*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin A549 ve MDA-MB-231 hücre hatları üzerine karşı sitotoksik aktivitesi ilk kez çalışılmış olup 24 saatlik toksisite sonuçlarının literatürde benzer veri olmaması nedeniyle literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir. A549 hücre hattında %80 metanol ekstresinin 7,8-250 µg/mL konsantrasyon aralığında canlılığı %50'nin altına düşürmediği, 500 ve 1000 µg/mL konsantrasyonlarda ise hücre canlılığını %50'nin altına düşürdüğü belirlenmiştir. Fraksiyonlar arasında en güçlü etkiyi etil asetat fraksiyonu göstermiş 1000 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını% 85.83 oranında inhibe etmiştir. Ekstrelerin

MDA-MB 231 hücre hattına olan etkileri incelendiğinde %80 metanol ekstresi ve etil asetat fraksiyonu 250-1000 µg/mL konsantrasyon aralığında canlılığı %50'nin altına indirmiştir. Hekzan ekstresi her iki hücre hattında da etkili bulunmamıştır. *Psephellus pyrrhoblepharus* ile yapılan bir çalışmada kloroform ekstresinin, metanol:su ve n-hekzan ekstreleri ile karşılaştırıldığında 12 saatte 200 µg/mL konsantrasyonda HEPG2 hücrelerine karşın en yüksek sitotoksik etkinliği gösterdiği bildirilmiştir (Taştan ve ark. 2021). *Psephellus goeksunensis*'in hekzan ve kloroform ekstrelerinin PC-3 hücrelerine karşı sırasıyla 7,052 ± 1.12 and 8,861 ± 1,33 µg/mL IC50 değerleriyle güçlü sitotoksik aktivite sergilediği gösterilmiştir (Demiröz vd. 2020).

Ekstrelerin kimyasal kompozisyonları belirlenerek etkiden sorumlu bileşiğin yapı tayinine gidilmesi ve toksisite çalışmalarının 48 ve 72 saat üzerinden tekrarlanarak değerlendirilmesi çalışmamızın ikinci kısmını oluşturmaktadır.

Tablo 5.1. *Psephellus turcicusun ile Psephellus goeksunensis* karşılaştırma

Bitki	***Psephellus goeksunensis***	***Psephellus turcicusun***
Fitokimyasal Çalışması	Metanol extraktında toplam fenolik içerik 19.24±0.4bir GAE µg/mL, toplam flavonit ise 34.42±1.01 QEµg/mL	Metanol extraktında toplam fenolik miktarı 126.50±6,31 mgGAE/gekstre, toplam flavonit miktarı 27,65±0,41 mgCA/gekstre
Kloroform Ekstratında	Toplam fenolik içerik 16.00±0.86 b GAE µg/mL,toplam flavonit içerik 92.65±0.81 c QEµg/mL	Toplam fenolik miktarı 87,93±1,22 mg GAE /g ekstre, toplam flavonit miktarı ise 24,95±0,29 mg CA /g ekstre
Hekzan Ekstratında	Toplam fenolik içrik 10.90±1.38 GAE µg/mL, toplam flavonit içerik 71.34±1.31 d QEµg/mL	Toplam fenolik içerik 45,51±3,93 mg GAE /g ekstre, toplam flavonit içerik ise 21,47±0 Ethyl acetate ekstratında,52 mg CA /g ekstre.
Butanol ekstratında		Fenolik içerik 129,90±3,01 mgGAE/gekstre, toplam flavonit içerik ise 32,89±0,46 mgCA/gekstre
Ethyl acetate ekstratında		Ethyl acetate ekstratında toplam fenolik içerik 202,55±3,01 mg GAE /g ekstre, toplam flavonit içerik ise 44,83±0,45 mg CA /g ekstre
Su ekstratında		Toplam fenolik içerik 70,04±3,01 mgGAE/gekstre, toplam flavonit içerik ise 13,91±0,64 mgCA/gekstre

Bozkurt'un 2015'deki çalışmasında, *Psephellus aucherianus* türü ve yakın taksonların kromozom sayıları çalışılmıştır. Bu çalışmada tüm popülasyonların diploid kromozom sayısı 2n = 30'dur. *Psephellus sintenisii, Psephellus aucherianus* ve *Psephellus yusufeliensis* türlerinin karyotip formülleri sırasıyla 30m, 4sm + 26m ve 2sm + 28m şeklindedir. Bu türlerin kromozom sayıları türümüz ile aynı olmasına rağmen karyotip formülleri türümüz ile farklılık göstermektedir. Bu bulgular taksonomik olarak yakın olan taksonların kromozomal verilere göre karakterizasyonlarının yapılabileceğini göstermektedir. Kromozomal verileri rapor edilen üç taksonun kromozom tiplerinin morfolojik olarak oldukça benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Kromozom tiplerinin belirlenmesindeki temel kriter sentromer pozisyonudur. *Psephellus aucherianu*s

populasyonlarının toplam haploid kromozom uzunluğunun 18-21 µm ve *Psephellus yusufeliensis* populasyonlarının toplam haploid kromozom uzunluğunun ise 17-19 µm arasında değiştiği tespit edilmiştir. Karyotip asimetrilerinde A1 ve A2 parametreleri varyasyon katsayısını ifade etmektedir. A1 değerine göre, populasyonlar arasında en simetrik karyotip *Psephellus sintenisii* taksonunun 62 numaralı populasyonunda tespit edilmiştir. *Psephellus yusufeliensis* açısından en simetrik karyotip Yusufeli populasyonunda, *Psephellus aucherianus* açısından en simetrik karyotip Bağıştaş populasyonunda belirlenmiştir. *Psephellus aucherianus* ve *Psephellus yusufeliensis* populasyonlarında asimetri indeksi (AI) değerleri sırasıyla 2.2 - 2.5 ve 1.1 - 1.3 arasında değişmektedir. Bu değerlere göre *Psephellus aucherianus* Bağıştaş populasyonun en yüksek AI değerine sahip olması, A2 değerinin (kromozomlar arası asimetri) yüksek oluşu ile bağlantılıdır. Özetle, kromozom uzunluklarındaki varyasyonun Bağıştaş populasyonunda, diğer populasyonlara kıyasla daha fazla olduğunu söyleyebiliriz. Zaten Bağıştaş populasyonu kromozomlarının minimum ve maksimum uzunlukları, bu kromozomlar arasındaki değişkenliği açıkça göstermektedir. Sonuç olarak, kromozom morfolojisi ve karyotip asimetrisi bakımından en farklı türün, *Psephellu sintenisii* olduğu rapor edilmiştir.

Bizim çalışmamızda ise *Psephellus turcisus* türüne ait metafaz kromozomları. Buna göre türün diploid kromozom sayısı ve karyotip formülü $2n = 2x = 30 = 12m + 18sm$ olarak tespit edilmiştir. Toplam haploid uzunluk 30.83 µm ve ortalama haploid uzunluk 2.06 µm uzunluğundadır.

Bu çalışma sonucunda *Psephellus turcisus* türünün diğer *Psephellus* türlerine göre kromozom sayıları aynı olmasına rağmen karyotip formülü baımında bir varyasyon söz konusudur. Türün karyotipi diğer türlere benzer şekilde simetrik tiptedir.

6. KAYNAKLAR

Acet, T., Özcan, K., Sefalı, A., (2020). Biological Activity Of Psephellus Appendicigerus As A Natural Agent. *Plant Biosystems*, 155(5), 1013-8.

Akan, H., Aydoğdu, M., Korkut, M.M., Balos, M.M., (2013). An Ethnobotanical Research Of The Kalecik Mountain Area (Şanlıurfa, South-East Anatolia). *Biological Diversity and Conservation*, 6(2), 84–90.

Akkol, E.K., Arif, R., Ergun, F., Yesilada, E., (2009). Sesquiterpene Lactones With Antinociceptive And Antipyretic Activity From Two *Centaurea* Species. *Journal of Ethnopharmacology*, 122(2), 210–5.

Aktumsek, A., Zengin, G., Guler, G.O., Cakmak, Y.S., Duran, A., (2013). Antioxidant Potentials And Anticholinesterase Activities Of Methanolic And Aqueous Extracts Of Three Endemic *Centaurea* L. Species. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 290–6.

Ali, Y.E., Omar, A., Sarg, T., Slatkin, D., (1987). Chemical Constituents of *Centaurea pallescens*. *Planta Medica*, 53(5), 503–4.

Al-Easa, H.S., Kamel, A., Rizk, A-F.M. (1992). Flavonoids from *Centaurea sinaica*. *Fitoterapia*, 63(5), 468–9.

Astari, K.A., Byakna-Erel, S., Bedir, E., Karaalp, C., (2013). Secondary Metabolites of *Centaurea cadmea* Boiss. *Record of Natural Products*, 7(3), 242–4.

Aydin, Ö., Çoşkunçelebi, K., Gültepe, M., Güzel, M.E., (2013). A contribution to taxonomy of *Centaurea* including *Psephellus* (Asteraceae) based on anatomical and molecular data. *Turkish Journal of Botany*, 37(3), 419–27.

Bakr, R.O., Mohamed, S.A., Ayoub, N., (2016). Phenolic Profile of *Centaurea aegyptiaca* L. Growing in Egypt and its Cytotoxic and Antiviral Activities. *African Journal of Traditional Complementary Alternative Medicines*, 13(6), 135–43.

Barrero, A.F., Herrador, M.M., Arteaga, P., Cabrera, E., Rodriguez-Garcia, I., Garcia-Moreno, M., (1997). Cytotoxic activity of flavonoids from *Carthamus arborescens*, *Ononis natrix* ssp. *ramosissima* and *Centaurea malacitana*. *Fitoterapia*, 68(3), 281–3.

Barres, L., Sanmartín, I., Anderson, C.L., Susanna, A., Buerki, S., Galbany-Casals, M., (2013). Reconstructing the evolution and biogeographic history of tribe *Cardueae* (Compositae). *American Journal of Botany*, 100(5), 867–82.

Bastos, M., Kijjoa, A., Pinto, M., (1994). Constituents of *Centaurea ornata* ssp. *ornata*. *Fitoterapia*, 65(2), 191.

Baykan-Erel, S., Bedir, E., Khan, I.A., Karaalp, C., (2010). Secondary metabolites from *Centaurea ensiformis*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(5), 1056-1058.

Baytop, T., (1999). Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Bona, M., (2015) *Centaurea goksivriensis* (Asteraceae), A New Species from Turkey. *Phytotaxa*, 203(1), 63–8.

Bruno, M., Bancheva, S., Rosselli, S., Maggio, A., (2013). Sesquiterpenoids in subtribe *Centaureinae* (Cass.) Dumort (tribe Cardueae, Asteraceae): Distribution, 13C NMR spectral data and biological properties. *Phytochemistry*, 95, 19–93.

Bozkurt, M., (2015). *Psephellus aucherianus* (DC.) Boiss. (Asteraceae) Kompleksine ait tür populasyonlarında genetik çeşitliliğin belirlenmesi. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi.

Cakilcioglu, U., Turkoglu, I., (2010). An ethnobotanical survey of medicinal plants in Sivrice (Elazığ-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 132(1), 165–75.

Cardona, M.L., Fernandez, I., Pedro, J.R., Perez, B., (1991). Sesquiterpene lactones and flavonoids from *Centaurea aspera*. *Phytochemistry*, 30(7), 2331–3.

Cowan, M. M., (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–582.

Christensen, L.P., Lam, J., (1991) Acetylenes and other constituents from *Centaurea* species. *Phytochemistry*, 30(10), 3289–92.

Christensen, L.P., Lam, J., (1991). Flavones and other constituents from *Centaurea* species. *Phytochemistry*, 30(8), 2663–5.

Cowan, M.M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–82.

Csupor, D., Widowitz, U., Blazsõ, G., Laczkõ-Zöld, E., Tatsimo, J.S.N., Balogh, Á., (2013). Anti-inflammatory activities of eleven *Centaurea* species occurring in the carpathian basin. *Phytherapy Research*, 27(4), 540-4.

Davis, P.H., Mill, R.R., Tan, K., (1998). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, vol. 10, 166-169.

Demir, S., Karaalp, C., Bedir, E., (2017). Specialized metabolites from the aerial parts of *Centaurea polyclada* DC. *Phytochemistry*, 143, 12–8.

Demir, S., Karaalp, C., Bedir, E., (2016). Unusual sesquiterpenes from *Centaurea athoa* DC. *Phytochemistry Letters*,15, 245–50.

Demiroz, T., Nalbantsoy, A., Köse, F.A., Baykan, S., (2020). Phytochemical composition and antioxidant, cytotoxic and anti-inflammatory properties of *Psephellus goeksunensis* (Aytaç & H. Duman) Greuter & Raab-Straube, *South African Journal of Botany*, Volume 130, 1-7.

Djeddi, S., Chatter, R., Karioti, A., Argyropoulou, C., Kharrat, R., Skaltsa, H., (2008). Analgesic activity of secondary metabolites from two *Centaurea* species. *Planta Medica*, 74(9), 37.

Doğan, B., Behçet, L., Duran, A., Avlamaz, D., (2015). *Psephellus vanensis* (Asteraceae), a new chasmophyte species from east Turkey. *Phytokeys*, 48, 11-19.

Duran, A., Hamzaoğlu, E., (2005). *Psephellus turcicus* sp. nov. (Asteraceae), A New Chasmophyte Species From Central Anatolia, Turkey. *Botanical journal of the Linnean Society*, 148(4), 495-500.

Erel, S.B., Karaalp, C., Bedir, E., Kaehlig, H., Glasl, S., Khan, S., (2011). Secondary metabolites of *Centaurea calolepis* and evaluation of cnicin for Anti-İnflammatory, Antioxidant, And Cytotoxic Activities. *Pharmaceutical Biology*, 49(8), 840–9.

Erol, M.K., Tuzlacı, E., (1997). Eğirdir (Isparta) Yöresinin Geleneksel Halk İlacı Olarak Kullanılan Bitkileri, "XI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No:75. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, 466-75.

Fernandez, I., Garcia, B., Grancha, F.J., Pedro, J.R., (1989). Sesquiterpene Lactones, Flavonoids and Coumarins from *Centaurea collina*. *Phytochemistry*, 28(9), 2405–7.

Ferrer-Gallego, P.P., Altınordu, F., (2016). Typification of Four Linnaean Names in *Centaurea* (Asteraceae). *Annales Botanici Fennici*, 53(1–2), 130–4.

Garcia-Jacas, N., Susanna, A., Mozaffarian, V., Ilarslan, R., (2000). The natural delimitation of *Centaurea* (Asteraceae: Cardueae): ITS sequence analysis of the *Centaurea jacea* group. *Plant Systematics and Evolution*, 223(3–4), 185–99.

González, A.G., Darias, V., Alonso, G., Estévez, E., (1980). The Cytostatic Activity Of The Chlorohyssopifolins, Chlorinated Sesquiterpene Lactones from *Centaurea*. *Planta Medica*, 40(2), 179–84.

Greuter, W., (2003) The Euro+Med Treatment of Cardueae (Compositae): Generic Concepts and Required New. Bot Garten und Bot Museum. 33(1), 49–61.

Greuter, W., (2003) The Euro+Med Treatment of Senecioneae and the Minor Compositae Tribes: Generic Concepts and Required New Names, with an 277 Addendum to Cardueae. *Willdenowia*, 33(2), 245–50.

Gonz'alez, A.G., Bermejo, J., Toledo, F., Daza, L.R. (1981). Sesquiterpene lactones from *Centaurea arbutifolia*. *Phytochemistry*, 20(8), 1895–7.

Gülcemal, D., Alankuş-Çalışkan, Ö., Karaalp, C., Örs, A.U., Ballar, P., Bedir, E., (2010). Phenolic Glycosides With Antiproteasomal Activity From *Centaurea urvillei* DC. subsp. *urvillei*. *Carbohydrate Research*, 345(17), 2529–33.

Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M., (2012). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. İstanbul, 192.

Güneş, F., Özhatay, N., (2011). An ethnobotanical study from Kars (Eastern) Turkey. *Biological Diversity and Conservation*, 4(1): 30-41.

Güneş, S., Savran, A., Paksoy, M., Koşar, M., Çakılcıoğlu, U., (2017). Ethnopharmacological Survey of Medicinal Plants in Karaisalı and its Surrounding (Adana-Turkey). *Journal of Herbal Medicine*, 68–75.

Gürbüz, I., Yesilada, E., (2007). Evaluation Of The Anti-Ulcerogenic Effect Of Sesquiterpene Lactones from *Centaurea solstitialis* L. ssp. *solstitialis* by Using Various in vivo and Biochemical Techniques. *Journal of Ethnopharmacology*, 112, 284–91.

Gyamfi, M.A., Yonamine, M., Aniya, Y., (1999). Free-Radical Scavenging Action of Medicinal Herbs from Ghana Thonningia Sanguinea on Experimentally Induced Liver Injuries. *General Pharmacology*, 32, 661-667.

Honda, G., Yeşilada, E., Tabata, M., Sezik, E., Fujita, T., Takeda, Y., (1996). Traditional medicine in Turkey VI. Folk medicine in West Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydin provinces. *Journal of Ethnopharmacology*, 53(2), 75–87.

Ifantis, T.M., Solujić, S., Pavlović-Muratspahić, D., Skaltsa, H., (2013). Secondary metabolites from the aerial parts of *Centaurea pannonica* (Heuff.) Simonk. from Serbia and their chemotaxonomic importance. *Phytochemistry*, 94, 159–70.

Jeffrey, C., vol.ed: Kadereit, J.W., Jeffrey, C., (2007). The Families and genera of Vascular Plants, vol. VIII, 140.

Karamanoğlu, K., (1977). Farmosötik Botanik. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi yayınlar. Ankara.

Karamenderes, C., Bedir, E., Abou-Gazar, H., Khan, I.A., (2007). Chemical constituents of *Centaurea cadmea*. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(6), 694–5.

Karamenderes, C., Bedir, E., Pawar, R., Baykan, S., Khan, I.A., (2007). Elemanolide sesquiterpenes and eudesmane sesquiterpene glycosides from Centaurea hierapolitana. *Phytochemistry*, 68(5), 609–15.

Kaval, I., Behçet, L., Cakilcioglu, U., (2014). Ethnobotanical study on medicinal plants in Geçitli and its surrounding (Hakkari-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 155(1), 171–84. *Iranian journal of pharmaceutical research*, 10(4), 829–33.

Khan, A.N., Fatima, I., Khaliq, U.A., Malik, A., Miana, G.A., Qureshi, Z.U.R. (2011). Potent Anti-Platelet Constituents from *Centaurea iberica*. *Molecules*, 2011, 16, 2053–64.

Korkmaz, M., Karakuş, S., Selvi, S., Çakılcıoğlu, U., (2016). Traditional knowledge on wild plants in Üzümlü (Erzincan-Turkey). *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 15(4), 538–45.

Korkmaz, N., Sener, S.O., Balturk, N., Kanbolat, S., Badem, M., Aliyazicioğlu, R., Özgen, U., Kandemir, A., Karaoglu, S.A.,. (2019). Determination of Phenolic Contents by HPLC, and Antioxidant, Antimicrobial, Antityrosinase, and Anticholinesterase Activities of *Psephellus huber-morathii*. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 26(1), 1-10.

Kumarasamy, Y., Fergusson, M. E., Nahar, L., Sarker, S.D., (2002). Bioactivity of Moschamindole from *Centaurea moschata*. *Pharmaceutical Biology*, 211(64), 307–10.

Kulkarni, A. A., (2000). Mikropropagation and Secondery Metbolite Study in Taxus spp. And Withannia Somnifera (L) Dunal, DSc Thesis, National Chemical Laboratory, Pune.

Kültür, Ş., (2008). An ethnobotanical study of Kırklareli (Turkey). *Phytologia Balcanica*, 14(2), 279–89.

Lazari, D., Tsioumela, C., Pegklidou, K., Karioti, A., Demopoulos, V., Skaltsa, H., (2008). Inhibitory activity of extracts and bioactive constituents of *Centaurea phyllocephala* Boiss. (Asteraceae) on aldose reductase in vitro. *Planta Medica*, 74(9), 144.

Levan, A.K., Fredga, K., Sandberg, A.A., (1964) Nomenclature for centromic position on chromosomes. *Hereditas*, 52, 201-220.

Litvinenko, VI., (1988) Bubenchikova VN. Phytochemical study of *Centaurea cyanus*. *Chemistry of Natural Compounds*, 24 (6), 672–4.

Lonergan, G., Routsi E., Georgiadis T., Agelis G., Hondrelis J., Matsoukas J., (1992). Isolation, Nmr Studies, and Biological Activities of Onopordopicrin from *Centaurea sonchifolia*. *Journal of Natural Products*, 55 (2), 225–8.

Magalhães, L.M., Segundo M.A., Reis J., (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytice Chimica Acta*, 613 (1), 1–19.

Najafi, S., (2012) Türkiye ve İran kökenli Bazı Aegilops Türlerinin Karyotip Karakterizasyonu, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara.

Nowak, G., (1992). A chemotaxonomic study of sesquiterpene lactones from subtribe *Centaureinae* of the Compositae. *Phytochemistry*, 31(7), 2363–8.

Nowak, G., Drożdż, B., Holub, M., Łagodzińska, A., (2014). Sesquiterpene lactones. XXXIII. Guaianolides in the subgenus *Psephellus* (Cass.) Schmalh., genus *Centaurea* L. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 55(4), 629–37.

Nowak, G., Drozdz, B., Kroszczynski, W., Holub, M., (1986). Sesquiterpene lactones. XXIX. Cynaropicrin in species of the subtribe *Centaureinae* Dumort. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 55(1), 17–22.

Öksüz, S., Ayyildiz H., Johansson C., (1984). 6-Methoxylated and C-glycosyl flavonoids from *Centaurea* species. *Journal of Natural Products*, 47(5), 902–3.

Orallo, F., Lamela M., Camiña M., Uriate E., Calleja, J., (1998). Preliminary study of the potential vasodilator effects on rat aorta of centaurein and centaureidin, two flavonoids from *Centaurea corcubionensis*. *Planta Medica*, 64(2), 116–9.

Özçelik, B., Gürbüz, I., Karaoglu, T., Yeşilada, E., (2009). Antiviral and Antimicrobial Activities of Three Sesquiterpene Lactones from *Centaurea solstitialis* L. ssp. *solstitialis*. *Microbiological Research*, 164(5), 545–52.

Özüdoğru, B., Akaydın, G., Erik, S., Yesilada, E., (2011). Inferences from an ethnobotanical field expedition in the selected locations of Sivas and Yozgat provinces (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 85–98.

Park, J.B., (2012). Synthesis, biological activities and bioavailability of moschamine, a 280 safflomide-type phenylpropenoic acid amide found in *Centaurea cyanus*. *Natural Product Reserach*, 26(16), 1465–72.

Paszko, A., (2006). A critical review and a new proposal of karyotype asymmetry indices. *Plant Systematics and Evolution*, 258, 39-48.

Peruzzi, L. & Eroglu, H.E. 2013. Karyotype asymmetry: again, how to measure and what to measure. *Comparative Cytogenetics*, 7(1), 1-9.

Picher, M.T., Seoane, E., Tortajada, A., (1984). Flavones, sesquiterpene lactones and glycosides isolated from *Centaurea aspera* var. s*tenophylla*. *Phytochemistry*, 23(9), 1995–8.

Pirvu, L., Dragomir, C., Schiopu, S., Mihul, S.C., (2012). Vegetal extracts with gastroprotective activity. Part. I. Extracts obtained from *Centaurea cyanus* L. raw material. *Romanian Biotechnological Letters*, 17(2), 7169-76.

Polat, R., Cakilcioglu, U., Satıl, F., (2013). Traditional uses of medicinal plants in Solhan (Bingöl—Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 148(3), 951–63.

Pollock, J.L., Kogan, L.A., Thorpe, A.S., Holben, W.E., (2011). (±)-Catechin, A Root Exudate of the Invasive *Centaurea* Stoebe Lam. (Spotted Knapweed) Exhibits Bacteriostatic Activity Against Multiple Soil Bacterial Populations. *Journal of Chemical Ecology*, 37(9), 1044–53.

Radan, M., Carev, I., Tesevic, V., Politeo, O., Culic, V.C., (2017). Qualitative HPLC-DAD/ESI-TOF-MS Analysis, Cytotoxic, and Apoptotic Effects of Croatian Endemic *Centaurea ragusina* L. Aqueous Extracts. *Chemistry & Biodiversity*, 14(9), 1-9.

Radić, S., Pevalek-Kozlina, B., (2010). Differential esterase activity in leaves and roots of *Centaurea ragusina* L. as a consequence of salinity. Period Biol. *Croatian Society of Natural Sciences*, 112(3), 253–8.

Re R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Evans, C.R., (1999). Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26, 1231-7.

Sargın, S.A., Akçicek, E., Selvi, S., (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants used by the local people of Alaşehir (Manisa) in Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 150(3), 860–74.

Sezik, E., Yeşilada, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y., Tanaka, T., (2001). Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in Central Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, 75(2–3), 95–115.

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Ravento´S R.M., (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology,* 299, 152-178.

Skaltsa, H., Lazari, D., Georgiadou, E., Kakavas, S., Constantinidis, T., (1999). Sesquiterpene Lactones from *Centaurea* Species: *C. thessala* subsp. *drakiensis* and *C. attica* subsp. *attica*. *Planta Medica,* 65(4), 393.

Stevens, K.L., (1982). Sesquiterpene lactones from *Centaurea repens*. *Phytochemistry*, 21(5), 1093–8.

Susanna, A., Garcia-Jacas, N., Hidalgo, O., Vilatersana, R., (2006). The Cardueae (Compositae) Revisited: Insights from ITS, trnL-trnF, and matK Nuclear and The Cardueae (Compositae) DNA Analysis 1-2. Source. *Annals of the Missouri Botanical Gardens*, 93(1), 150–71.

Tai, A., Sawano, T., (2011). Yazama F. Antioxidant Properties of Ethyl Vanillin in vitro and in vivo. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 75(12), 2346-50.

Taştan, P., Armağan, G., Dağcı, T., Kıvçak, B., (2021). *Psephellus pyrrhoblepharus* Ekstrelerinin Sitotoksik Aktivitesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi,* 16 (2), 231-5.

Tuzlacı, E., (2006) Türkiye Bitkileri Sözlüğü. İstanbul: Alfa Yayınları,

Tuzlacı, E., (2007) Dekoratif Türkiye Bitkileri. İstanbul: Alfa Yayınları,

Twaij, H.A., Kery, A., Al-Khazraji, N.K., (1983). Some pharmacological, toxicological and phytochemical investigations on *Centaurea phyllocephala*. *Journal of Ethnopharmacology*, 9(2–3), 299–314.

Vázquez, F.M., Suarez, M.A., Pérez, A., (1997). Medicinal plants used in the Barros Area, Badajoz Province, Spain. *Journal of Ethnopharmacology*,55(2), 81–5.

Yeşilada, E., Gürbüz, I., Shibata, H., (1999). Screening of Turkish anti-ulcerogenic folk remedies for anti-Helicobacter pylori activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 66(3), 289–93.

Twaij, H.A., Kery, A., Al-Khazraji, N.K., (1983). Some pharmacological, toxicological and phytochemical investigations on *Centaurea phyllocephala*. *Journal of Ethnopharmacology*, 9(2–3), 299–314.

Vázquez, F.M., Suarez, M.A., Pérez, A., (1997). Medicinal plants used in the Barros Area, Badajoz Province, Spain. J Ethnopharmacol. 55(2), 81–5.

Yeşilada, E., Gürbüz, I., Shibata, H., (1999). Screening of Turkish anti-ulcerogenic folk remedies for anti-Helicobacter pylori activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 66(3), 289–93.

Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555−9.

Wagenitz, G., *Centaurea* L. Davis, P.H. (ed), (1975). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, vol. 5, 465-585.

Wagenitz, G., Hellwig F.H., (2000). The genus *Psephellus* Cass. (Compositae, Cardueae) revisited with a broadened concept. *Willdenowia*, 30(1), 29–44.

Vajs, V., Todorović, N., Ristić, M., Tešević, V., Todorović, B., Janaćković, P., Marin, P., Milosavlevic, S., (1999). Guaianolides from *Centaurea nicolai*: antifungal activity. *Phytochemistry*, 52(3), 383–6.

Wagenitz, G., Ertugrul, K., Dural, H., (1998). A new species of *Centaurea* sect. *Psephelloideae* (Compositae) from SW Turkey. *Willdenowia*, 28(1–2), 157–61.

Wei, HX., Gao, W.Y., Tian, Y.J., Guan, Y.K., Huang, M.H., Cheng, D.L., (1997). New eudesmane sesquiterpene and thiophene derivatives from the roots of *Rhaponticum uniflorum*. *Pharmazie*, 52(3), 245–7.