

**T.C.**  
**BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**



**Endemik *Gundelia dersim* Bitkisinin Farklı Ekstraktlarının Sitotoksik ve Antigenotoksik Etkilerinin Araştırılması**

**SALİHA AYDIN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Jüri Üyeleri:**    **Prof. Dr. Serap DOĞAN..... (Tez Danışmanı)**  
                         **Arş. Gör. Dr. Begümhan YILMAZ KARDAŞ.... (Eş Danışman)**  
                         **Prof. Dr. Serap ÇELİKLER KASIMOĞULLARI**  
                         **Prof. Dr. Oktay ARSLAN**

**BALIKESİR, HAZİRAN-2022**



## ETİK BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak tarafımda hazırlanan “**Endemik *Gundelia dersim* Bitkisinin Farklı Ekstraktlarının Sitotoksik ve Antigenotoksik Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı tezde;

- Tüm bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Kullanılan veriler ve sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tüm bilgi ve sonuçları bilimsel araştırma ve etik ilkelere uygun şekilde sunduğumu,
- Yararlandığım eserlere atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,

beyan eder, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ederim.

**Saliha AYDIN**

(imza)



**Bu tez çalışması Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından 2021/028 nolu proje ile desteklenmiştir.**

## ÖZET

### ENDEMİK *GUNDELIA DERSİM* BİTKİSİNİN FARKLI EKSTRAKLARININ SİTOTOKSİK VE ANTİGENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

#### YÜKSEK LİSANS TEZİ

SALİHA AYDIN

BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. SERAP DOĞAN)

(EŞ DANIŞMAN: ARŞ. GÖR. DR. BEGÜMHAN YILMAZ KARDAŞ)

BALIKESİR, HAZİRAN- 2022

Endemik bir bitki olan *Gundelia dersim* Vitek, Yüce & Ergin, önemli fitokimyasallar için potansiyel bir kaynaktır ve geleneksel tıp ve beslenme amacıyla kullanılmaktadır. Bu nedenle bitkinin güvenli kullanımını sağlamak amacıyla toksikolojik özelliklerini belirlemek oldukça önemlidir. Literatürde *G. dersim*'in toksikolojik özellikleri ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada *G. dersim* ekstraktlarının fitokimyasal özellikleri, antioksidan ve antibakteriyel aktiviteleri, sitotoksisiteleri, genotoksisiteleri, hemouyumluluğu ve *in vivo* toksisiteleri belirlenmiştir. HPLC sonuçları *G. dersim*'de en fazla bulunan metabolitin kafeik asit olduğunu göstermiştir. DPPH, ABTS ve FRAP testleri metanol ve etanol ekstraktlarının su ekstraktlarından daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. *G. dersim* ekstraktlarının bu çalışmada kullanılan beş bakteri suşuna karşı antibakteriyel oldukları gözlemlenmiştir. Sitotoksisite sonuçları tüm ekstraktların 0.25-50 mg/L konsantrasyonları aralığında bitkinin sitotoksik etkiye sahip olmadığını göstermiştir. Mikronükleus verileri, *G. dersim* ekstraktların (50 mg/L) mikronükleus oluşumunu artırmadığını ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynaklı oluşan mikronükleuslu hücreleri azalttığını göstermiştir. Yapılan hemoliz testi sonucunda ise bitki hemouyumlu bulunmuştur. Ayrıca *G. dersim* ekstraktları *Drosophila melanogaster*'in eklosyon sürecini etkilememiştir. Bu çalışma ile *G. dersim*'in su, metanol ve etanol ekstraktlarının çalışılan konsantrasyonlarda toksik bir etki göstermediğine dair ilk kanıtlar sunulmuştur. Sonuçlarımız, *G. dersim*'de bulunan sekonder metabolitlerin daha ileri biyokimyasal araştırmalarına ve farklı model organizmalar üzerinde toksikolojik araştırmalar yapılmasına yol açabilir.

**ANAHTAR KELİMELER:** *Gundelia dersim*, Asteraceae, Antioksidan, Sitotoksisite, Genotoksisite, *Drosophila*

Bilim Kod / Kodları : 20610, 20606, 20308

Sayfa Sayısı : 64

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF ANTIGENOTOXIC AND CYTOTOXIC EFFECTS OF DIFFERENT EXTRACTS OF ENDEMIC *GUNDELIA DERSIM* PLANT

MSC THESIS

SALIHA AYDIN

BALIKESIR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

(SUPERVISOR: PROF. DR. SERAP DOGAN )

(CO-SUPERVISOR: DR. BEGUMHAN YILMAZ KARDAS )

BALIKESİR, JUNE - 2022

*Gundelia dersim* Vitek, Yüce & Ergin, an endemic plant, is a potential source for important phytochemicals and is used for traditional medicine and nutrition. Therefore, it is crucial to determine the toxicological properties in order to ensure its safe use of the plant. There is no study in the literature on the toxicological properties of *G. dersim*. In this study, phytochemicals properties, antioxidant and antibacterial activities, cytotoxicity, genotoxicity, hemocompatibility and *in vivo* toxicity of *G. dersim* extracts were determined. HPLC results showed that the main metabolite of *G. dersim* was caffeic acid. DPPH, ABTS and FRAP tests revealed that methanol and ethanol extracts had higher antioxidant activity than water extracts. It was observed that the extracts of *G. dersim* were antibacterial against five bacterial strains used in this study. According to the cytotoxicity results, none of the extracts showed cytotoxic effects at concentrations of 0.25-50 mg/L. Micronucleus results showed that *G. dersim* extracts (50 mg/L) did not increase the micronucleus and reduced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced micronucleated cells. The plant was found to be hemocompatible as a result of the hemolysis test. In addition, *G. dersim* extracts didn't affect the eclosion process of *Drosophila melanogaster*. With this study, the first evidence that water, methanol and ethanol extracts of *G. dersim* do not show a toxic effect at the studied concentrations. Our results may lead to further biochemical investigations of secondary metabolites found in *G. dersim* and toxicological studies on different model organisms.

**KEYWORDS:** *Gundelia dersim*, Asteracea, Antioxidant, Cytotoxicity, Genotoxicity, *Drosophila*

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iii</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	<b>v</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>SEMBOL LİSTESİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>viii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1 Asteraceae (Papatyagiller) Familyasının Özellikleri .....	2
1.1.1 <i>Gundelia</i> L.'nin Özellikleri .....	2
1.1.1.1 <i>Gundelia dersim</i> Vitek, Yüce & Ergin .....	3
1.2 Serbest Radikaller ve ROS Oluşumu .....	3
1.2.1 Hidrojen peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).....	5
1.3 Antioksidanlar ve Oksidatif Stres .....	5
1.3.1 DPPH .....	6
1.3.2 ABTS • .....	6
1.3.3 FRAP .....	7
1.4 Antibakteriyel Aktivite .....	8
1.4.1 Disk Difüzyon Yöntemi .....	8
1.5 Hücre Kültürü ve Sitotoksosite .....	8
1.5.1 MTS Testi .....	9
1.6 Genotoksosite.....	10
1.6.1 Mikronükleus .....	10
1.7 Biyouyumluluk .....	11
1.7.1 Hemouyumluluk.....	11
1.8 <i>In vivo</i> Toksisitenin <i>Drosophila melanogaster</i> ile Belirlenmesi .....	11
1.9 Literatür Özeti .....	12
<b>2. YÖNTEM</b> .....	<b>17</b>
2.1 Materyal .....	17
2.1.1 Kullanılan Kimyasallar .....	17
2.1.2 Kullanılan Cihazlar .....	18
2.2 Metot .....	18
2.2.1 Bitki Materyallerinin Temini .....	18
2.2.2 Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması.....	18
2.2.2.1 Su Ekstraktlarının Hazırlanması.....	18
2.2.2.2 Metanol Ekstraktının Hazırlanması.....	19
2.2.2.3 Etanol Ekstraktının Hazırlanması.....	19
2.2.3 Fitokimyasal Analiz .....	19
2.2.3.1 HPLC.....	19
2.2.4 Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi.....	20
2.2.4.1 DPPH.....	20
2.2.4.2 ABTS.....	20



2.2.4.3 FRAP.....	21
2.2.5 Antibakteriyel Aktivite.....	21
2.2.6 Hücre Kültürü İşlemleri.....	21
2.2.6.1 Malzemelerin Sterilizasyonu .....	21
2.2.6.2 Kullanılan Besiyerinin Hazırlanması .....	22
2.2.6.3 Kandan Lenfosit Hücrelerinin İzolasyonu .....	22
2.2.7 Sitotoksitenin Belirlenmesi .....	22
2.2.7.1 MTS Testi.....	22
2.2.8 Genotoksitenin Belirlenmesi .....	23
2.2.8.1 Mikronükleus Testi.....	23
2.2.9 Hemoliz Testi .....	24
2.3 <i>In vivo</i> Toksisitenin Belirlenmesi .....	24
2.3.1 <i>Drosophila melanogaster</i> 'ın Büyüme Koşulları .....	24
2.3.2 <i>In vivo</i> Toksisite Testi .....	25
<b>3. BULGULAR.....</b>	<b>26</b>
3.1 Fitokimyasal Analiz Sonuçları.....	26
3.1.1 HPLC Sonuçları .....	26
3.2 Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	26
3.2.1 DPPH Sonuçları .....	26
3.2.2 ABTS Sonuçları .....	27
3.2.3 FRAP Sonuçları .....	28
3.3 Antibakteriyel Aktivite Sonuçları .....	29
3.4 Sitotoksiste Sonuçları .....	30
3.4.1 MTS Testi .....	30
3.5 Genotoksiste Sonuçları .....	31
3.5.1 Mikronükleus Testi .....	32
3.6 Hemouyumluluk Testi Sonuçları .....	32
3.7 <i>In vivo</i> Toksisite Sonuçları.....	33
<b>4. SONUÇ ve TARTIŞMA .....</b>	<b>35</b>
4.1 Fitokimyasal Analiz Sonuçları.....	35
4.2 Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	36
4.3 Antibakteriyel Aktivite Sonuçları .....	39
4.4 Sitotoksiste Sonuçları .....	40
4.5 Genotoksiste Sonuçları .....	42
4.6 Hemouyumluluk Sonuçları .....	43
4.7 <i>In vivo</i> Toksisite Sonuçları.....	44
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER .....</b>	<b>46</b>
<b>6. KAYNAKLAR (IEEE) .....</b>	<b>47</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>62</b>
EK A: Etik Kurul Kararı.....	62
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>64</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 1.1: Farklı zamanlarda ve farklı lokasyonlardan toplanmış <i>G. dersim</i> bitkisi .....	3
Şekil 1.2: ROS oluşumu ve oksidatif DNA hasarı .....	4
Şekil 1.3: DPPH• radikalının bir antioksidan tarafından giderilmesi.....	6
Şekil 1.4: ABTS'nin reaksiyon mekanizması .....	7
Şekil 1.5: Bir antioksidan madde tarafından Fe <sup>+3</sup> -TPTZ kompleksinin Fe <sup>+2</sup> -TPTZ kompleksine indirgenmesi .....	8
Şekil 1.6: Canlı hücrelerdeki aktif mitokondri tarafından tetrazolyum tuzu MTS'in formazan maddesine indirgenmesi .....	10
Şekil 1.7: Sitokinezin bloklanması yöntemiyle MN içeren binükleat hücrenin oluşumu ...	11
Şekil 1.8: <i>Drosophila melanogaster</i> 'in yaşam döngüsü .....	12
Şekil 3.1: <i>Gundelia dersim</i> ekstraktlarının % DPPH radikal giderme aktivitesinin dozlara göre değişimi .....	27
Şekil 3.2: <i>Gundelia dersim</i> ekstraktlarının % ABTS <sup>+</sup> giderme aktivitesinin dozlara göre değişimi.....	28
Şekil 3.3: Absorbanslara bağlı olarak çizilen trolox standart eğrisi ve denklemi .....	29
Şekil 3.4: <i>G. dersim</i> ekstraktının farklı bakteri suşları üzerinde gösterdiği antibakteriyel aktivite .....	30
Şekil 3.5: <i>Gundelia dersim</i> su ekstraktlarının 24 ve 48 saatlik MTS sonuçları .....	30
Şekil 3.6: <i>Gundelia dersim</i> metanol ekstraktlarının 24 ve 48 saatlik MTS sonuçları.....	31
Şekil 3.7: <i>Gundelia dersim</i> etanol ekstraktlarının 24 ve 48 saatlik MTS sonuçları.....	31
Şekil 3.8: Mikronükleus testi sonucunda gözlenen hücre örnekleri.....	32
Şekil 3.9: <i>G. dersim</i> 'in su, metanol ve etanol ekstraktları ile muamele edilmiş <i>Drosophila melanogaster</i> sineklerinin %puparasyon sonuçları .....	33
Şekil 3.10: <i>G. dersim</i> 'in su, metanol ve etanol ekstraktları ile muamele edilmiş <i>Drosophila melanogaster</i> sineklerinin hayatta kalma yüzdeleri .....	33
Şekil 3.11: <i>G. dersim</i> 'in su, metanol ve etanol ekstraktları ile muamele edilmiş <i>Drosophila melanogaster</i> sineklerinin % eklosyon sonuçları .....	34
Şekil A.1: Etik Kurul Kararı'nın 1. sayfası .....	62
Şekil A.2: Etik Kurul Kararı'nın 2. sayfası .....	63

## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

<b>Tablo 3.1:</b> <i>Gundelia dersim</i> bitkisinin HPLC analizinde gözlemlenen fenolik bileşikler..	26
<b>Tablo 3.2:</b> <i>Gundelia dersim</i> ekstraktlarının DPPH sonuçları .....	26
<b>Tablo 3.3:</b> <i>Gundelia dersim</i> ekstraktlarının ABTS sonuçları .....	27
<b>Tablo 3.4:</b> <i>Gundelia dersim</i> ekstraktlarının FRAP sonuçları .....	28
<b>Tablo 3.5:</b> <i>G. dersim</i> ekstraktlarının antibakteriyel aktivite sonuçları .....	29
<b>Tablo 3.6:</b> Mikronükleus sonuçları .....	32
<b>Tablo 3.7:</b> <i>Gundelia dersim</i> bitkisinin %Hemoliz oranı.....	32

## SEMBOL LİSTESİ

<b>ABTS</b>	: 2,2-(azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit))
<b>ALP</b>	: Alkalen fosfotaz
<b>ALT</b>	: Alanin aminotransferaz
<b>AST</b>	: Aspartat aminotransferaz
<b>BHT</b>	: Bütillenmiş hidroksil toluen
<b>CCl<sub>4</sub></b>	: Karbon tetraklorür
<b>CHO</b>	: Çin hamster yumurtalık hücresi
<b>COMET</b>	: Kuyruklu yıldız testi
<b>CUPRAC</b>	: Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite
<b>Cyt-B</b>	: Sitokalsin-B
<b>DAPI</b>	: 4,6-diamidino-2-fenilindol
<b>DPPH</b>	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
<b>EDTA</b>	: Etilendiamin tetraasetik asit
<b>FBS</b>	: Fetal bovine serum
<b>FRAP</b>	: Ferrik indirgeyici/ antioksidan güç
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>HCl</b>	: Hidroklorik asit
<b>HepG2</b>	: İnsan karaciğer kanseri hücre hattı
<b>HL-60</b>	: İnsan lösemi hücre hattı
<b>HUVEC</b>	: İnsan göbek damarı endotel hücreleri
<b>IC<sub>50</sub></b>	: %50 inhibitör konsantrasyonu
<b>KCl</b>	: Potasyum klorür
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	: Monopotasyum fosfat
<b>LDH</b>	: Laktat dehidrogenaz
<b>MCF-7</b>	: İnsan meme kanseri hücre hattı
<b>MN</b>	: Mikronükleus
<b>MTS</b>	: 5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4,5-dimetiltiyazol)-3-(4-sülfofenil)-2H-tetrazolyum
<b>MTT</b>	: 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il) -2-5-difeniltetrazolyum bromür
<b>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b>	: Disodyum fosfat
<b>NaCl</b>	: Sodyum klorit
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
<b>NCI-H292</b>	: İnsan akciğer kanseri hücre hattı
<b>NDI</b>	: Nükleer bölünme indeksi
<b>O<sub>2</sub>•</b>	: Süperoksit radikali
<b>OH•</b>	: Hidroksil radikali
<b>ORAC</b>	: Oksijen radikal absorban kapasitesi
<b>PBMC</b>	: Periferik kan mononükleer hücreleri
<b>Pen/Strep</b>	: Penisilin/ Streptomisin
<b>PVA</b>	: Polivinil alkol
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen türleri
<b>SCE</b>	: Kardeş kromatit değişim testi
<b>TPTZ</b>	: Tripiridiltriazin
<b>WST-1</b>	: (2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülfofenil)-2H-tetrazolyum-modosodyum

## ÖNSÖZ

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, destekleyici tavrını, sevgi ve ilgisini esirgemeyen, üzerimde emeği sonsuz olan, çok saygı ve sevgi duyduğum danışmanım Prof. Dr. Serap DOĞAN'a teşekkür ederim.

Güler yüzü ve neşesi ile motivasyonumu artıran, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan eş danışmanım Arş. Gör. Dr. Begümhan YILMAZ KARDAŞ'a yardım ve destekleri için teşekkür ederim.

Bilgi ve deneyimlerini aktardığı ve tez sürecinde hiçbir zaman yardımlarını esirgemediği için Dr. Öğr. Gör. Mehmet Emin DİKEN'e sonsuz teşekkürler.

Tezimin ana materyali olan bitkiyi toplayıp gönderdiği için Dr. Öğr. Üyesi Mikail ACAR'a teşekkür ederim.

Yardım ve desteklerinden dolayı laboratuvar arkadaşlarım Hamza BAYHAN, Franziska WILD KORKMAZ ve Sedef KIRDAR'a teşekkür ederim. Ayrıca her zaman yanımda olup bana destek olan arkadaşlarım E. Merve DEMİRBAŞ, Hatice AKAÇ ve İrem AKAÇ'a teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca maddi manevi desteklerini esirgemeyen ve her zaman bana güvenen babam Lokman AYDIN, annem Huriye AYDIN'a ve kardeşlerim Züleyha, Feyzanur ve M. Ali AYDIN'a yanımda oldukları için sonsuz teşekkürler.

BİDEB 2210-A Yurtiçi Yüksek Lisans Bursu ile beni desteklediği için TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

**Balıkesir, 2022**

**Saliha AYDIN**

# 1. GİRİŞ

Epidemiyolojik çalışmalar, doğal bileşikler tüketmenin insanları birçok hastalığa karşı koruduğunu göstermiştir. İnsanlar günlük hayatlarında çok sayıda kimyasala, kanserojene ve mutajene maruz kalabilmektedir. Maruz kalınan bu kimyasalların yıkıcı, mutajenik ve kanserojen etkilerini ortadan kaldıracak doğal bileşiklerin tanımlanması zorunluluk haline gelmiştir [1]. Genel olarak doğal bileşikler, canlı organizmalar tarafından üretilen kimyasal maddelerdir. Doğal bileşikler, birincil ve ikincil metabolitler olarak iki kategoriye ayrılabilirler. Birincil metabolitler, onları üreten organizmaların hayatta kalması için temel işlevleri olan maddelerdir. İkincil metabolitler ise hayatta kalmak için şart değildir ancak organizmanın kendi çevresi içindeki rekabet gücünü artırmak için gereklidir [2]. Ayrıca bu metabolitlerin insan sağlığı üzerinde faydalı etkileri vardır [3]. Antimikrobiyal, antialerjik, antiinflamatuvar, antioksidan ve serbest radikal temizleyici gibi birçok önemli biyolojik aktiviteye sahip olan tanenler, terpenoidler, alkaloidler ve flavonoidler gibi çeşitli ikincil metabolitler açısından zengin bitkiler, önemli doğal ürün kaynaklarıdır [2, 4]. Bu doğal bileşikler, yeni ilaç keşfi için en umut verici kaynaklardandır [3].

Şifalı bitkiler yüzyıllardır sayısız hastalığı tedavi etmek amacıyla yaygın olarak kullanılmış ve bitki kaynaklarından çok sayıda farklı ilaç geliştirilmiştir [5]. Şifalı bitkiler, esas olarak fenolik bileşiklerle ilişkilendirilen antioksidan aktiviteye sahip zengin doğal fitokimyasal kaynaklardır [6]. Flavonoidler başta olmak üzere sinamik asit türevleri, kumarinler, tokoferoller ve fenolik asitler en yaygın bitkisel fenolik antioksidanlardır [7].

Dünya sağlık örgütü (WHO) raporlarına göre, gelişmekte olan ülkelerde yaşayan insanların %80'i temel sağlık gereksinimleri için genelde bitkisel kökenli geleneksel ilaçlara güvenmektedir. Modern anlamda farmakolojik olarak geliştirilen ilaçların etken maddelerinin en az %25'i bitkilerden elde edilmektedir [8]. Şifalı bitkilere olan ilginin artması, ilaç endüstrisi tarafından biyolojik olarak etken yeni moleküllerin keşfine ve halk tarafından kendi kendine ilaç tedavisi için bitkilerin ham ekstraktlarının benimsenmesine yol açmıştır [4]. Bu artan ilgi, gıda, tarım ve ilaç endüstrilerinde kullanılan antifungal, antikanser, antibakteriyel ve antioksidanlar dahil olmak üzere bitkisel ürünlerin sahip olduğu biyolojik aktivitelerden kaynaklanmaktadır [9]. Aynı zamanda ilaç elde edilen bitkilere olan ilgi; maliyetinin düşük olması, yan etki göstermemesi, toksik etkilerin az olması ve doğal olarak üretilmiş olmalarından dolayı hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde artış

göstermektedir [8]. Dünya genelinde hem geleneksel hem de modern tıpta 50.000 ila 70.000 bitki türü kullanılmaktadır [10].

İnsanlar tarafından tüketilen tıbbi bitkilerin çoğu, uzun zamandır geleneksel olarak kullanılmalarından dolayı güvenli olarak kabul edilirler [11]. Buna rağmen bitkiler, doğal toksik, mutajenik veya kanserojen bileşikler de üretebilirler [12]. Bu nedenle, bitkisel araştırmalarda birinci öncelik, bitkisel ürünlerin güvenilirliğinin belirlenmesidir [13]. Bitki aleminde bulunan türlerin şu ana kadar çok küçük bir kısmı biyolojik aktiviteleri ve genotoksik özellikleri açısından incelenmiştir. Ancak kozmetik, ilaç ve gıda endüstrilerinde bitki kaynaklı doğal bileşiklere olan ilginin artması, daha sistematik ve kapsamlı bir inceleme yapılmasını gerektirmektedir [12].

Tıbbi ve aromatik bitkiler sınıfında bulunan Asteraceae familyası bitkilerinden elde edilen ekstrlerle yapılan çalışmalar farklı biyolojik aktiviteleri doğrulamaktadır [14].

### **1.1 Asteraceae (Papatyagiller) Familyasının Özellikleri**

Asteraceae familyası, yaklaşık 25.000–35.000 tür ve 1.600–1.700 cins ile çiçekli bitkilerin en büyük familyasıdır ve dünya çapında özellikle Batı Asya ve Akdeniz bölgesinde yayılım göstermektedir [15, 16]. Türkiye'de 138 cins ve 1.186 tür ile temsil edilmektedir [17]. Asteraceae bitkileri, oldukça çeşitli büyüme formları, bitkisel morfoloji ve anatomi, kromozom sayısı, çiçek yapısı ve polen formu ve yapısı göstermektedir [18]. Çoğu ılıman iklim bölgelerine, Akdeniz bölgesine ya da daha yüksek rakımlı tropiklerin daha soğuk bölgelerine özgü olmalarına rağmen küresel olarak dağılım gösterirler [19]. Asteraceae bitkileri, poliasetilenler, flavonoidler, kumarinler, terpenoidler ve tiyofenleri içeren büyük çeşitlilikteki sekonder metabolitleriyle bilinirler [20]. Asteraceae familyası bitkilerinin antifungal, antihipertansif, diüretik ve antihelmintik özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir [14]. Sahip olduğu bu özelliklerden dolayı Asteraceae familyasına ait bitkiler geçmişte ve günümüzde sıkça kullanılmaktadır [21].

#### **1.1.1 *Gundelia* L.'nin Özellikleri**

Asteraceae familyasına ait olan *Gundelia* taksonları, Orta Doğu ülkelerine özgü çok yıllık şifalı bitkilerdir [22]. *Gundelia* L. ilk olarak 16. yüzyılda Alman hekim, botanikçi ve gezgin Leonhard Rauwolf (1535-1596) tarafından Yakın Doğu'da yapılan en eski doğa tarihi koleksiyonlarından birinde keşfedilmiştir [23]. Cinsin dünyada 22 türü bulunmaktadır. Bu

türlerin 13'ü endemik olmak üzere 19'u Türkiye'de doğal olarak yetişmektedir [24]. *Gundelia* türleri yerel halk tarafından Kürtçe'de kenger, qorav, kereng, kerenk, keven, kengel ve Türkçe olarak; has kanger, acı kenger, eşek diken, kenger olarak bilinmektedir [25]. *Gundelia* cinsinin çeşitli türleri göğüs ağrısı, kalp felci, diyabet, mide ağrısı, bronşit, iltihaplar, diş absesi, epilepsi ve böbrek taşları gibi hastalıkları tedavi etmek amacıyla geleneksel tıbbi amaçlarla ve ayrıca yöre halkı tarafından gıda, yem, sakız ve kahve gibi çeşitli şekillerde kullanılmaktadır [26, 27].

#### 1.1.1.1 *Gundelia dersim* Vitek, Yüce & Ergin

Asteraceae familyasından olan ve halk arasında 'dersim kengeri' olarak da bilinen *Gundelia dersim* Vitek, Yüce & Ergin bitkisi, Türkiye'nin Tunceli ilinde keşfedilmiş endemik bir bitki türüdür (Şekil 1.1).  $2n=18$  kromozumlu diploid hücre yapısına sahiptir [23, 25]. Bitki endemik olduğu yörede ve çevresinde halk tarafından beslenme amaçlı kullanılmaktadır [28].



**Şekil 1.1:** Farklı zamanlarda ve farklı lokasyonlardan toplanmış *G. dersim* bitkisi [23, 28].

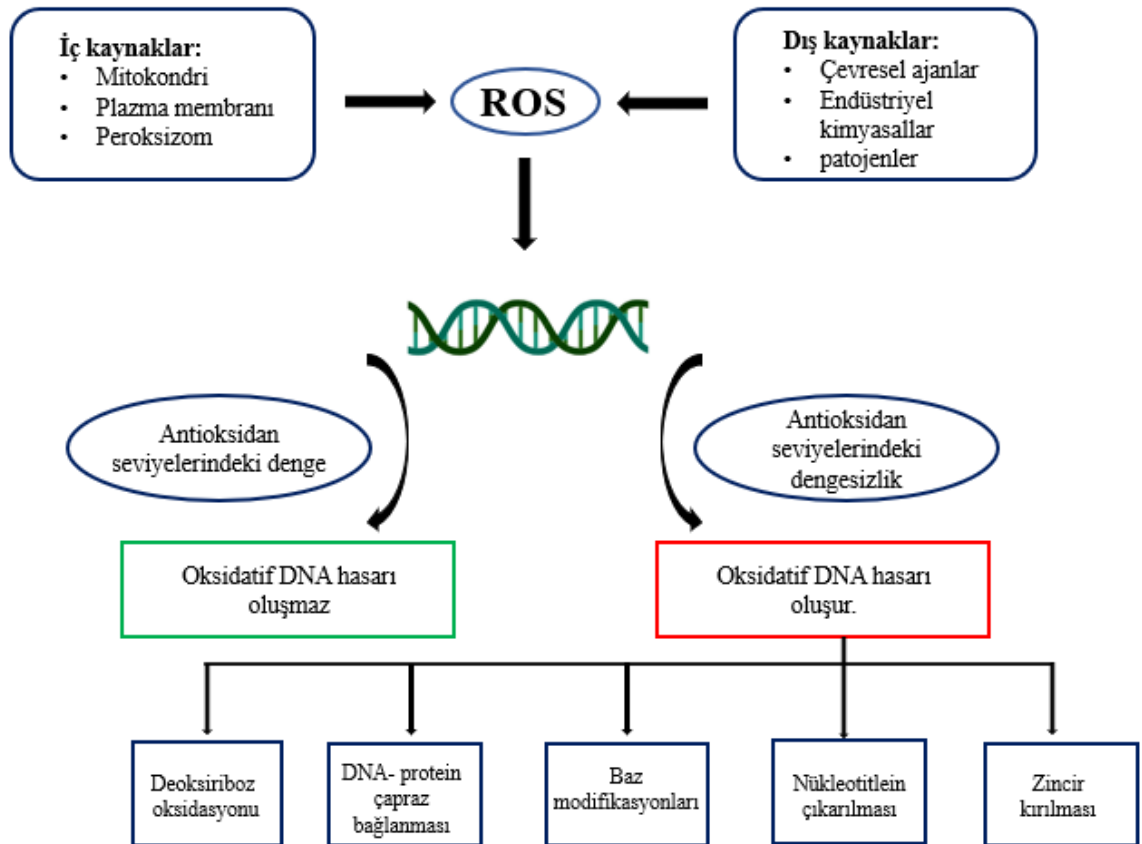
## 1.2 Serbest Radikaller ve ROS Oluşumu

Serbest radikaller en az bir eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve oldukça aktif moleküller olarak tanımlanırlar [29]. Radikaller, hücrel metabolizma sırasında veya çevre kirliliği, radyasyon, ksenobiyotik kullanımı, alkol ve sigara kullanımı, sigara dumanı, orman yangınları gibi dış etkenler yoluyla ortaya çıkabilirler [30-33]. Radikaller eşleşmemiş elektrona sahip oldukları için kimyasal olarak çok aktiftirler ve ortamdaki diğer biyolojik moleküllere saldırarak onların biyolojik yapılarını bozarlar. Bu radikal ve reaktif moleküller nükleik asitler, proteinler ve lipitleri okside ederek, kimyasal yapılarını bozarlar ve metabolizmalarında olumsuz sonuçların oluşmasına sebep olurlar [34]. Ancak serbest radikaller az miktarda bulunduğu zaman enfeksiyonlara karşı savunma,



kanser hücrelerinin öldürülmesi, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ve hücrel sinyallerin aktivasyonu gibi olaylarda rol oynarlar [33]. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijen kaynaklı radikallerdir [29]. Normal oksijenin az bir kısmı başlıca mitokondri olmak üzere hücrel metabolizma sırasında indirgenerek reaktif oksijen türlerine (ROS) dönüşmektedir. Başlıca reaktif oksijen türleri; süperoksit radikali ( $O_2\bullet$ ), hidroksil radikali ( $OH\bullet$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )'dir. Bu radikallerin ilk ikisi serbest radikal iken hidrojen peroksit prooksidandır [35].

Normal ROS seviyeleri, fizyolojik mekanizmalarda önemli bir rol oynar. Ancak insan vücudunda aşırı ROS üretimi, RNA ve DNA gibi biyomoleküller için oksidatif hasara sebep olabilir ve bu da hücre hasarına ve hücrel ölüme neden olabilir. DNA oksidatif hasarının formları arasında deoksiriboz oksidasyonu, zincir kopmaları, nükleotidlerin çıkarılması, azot bazlarının modifikasyonları ve bunlara bağlı olarak DNA zincirlerinin nükleotitleri arasındaki uyumsuzluklar bulunabilir. Oksidatif DNA hasarının onarılmaması durumunda, DNA mutasyonu, replikasyon hataları ve hücre ölümü meydana gelebilir (Şekil 1.2) [2].



Şekil 1.2: ROS oluşumu ve oksidatif DNA hasarı [2].

### 1.2.1 Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Hidrojen peroksit, serbest radikal olmadığı halde ROS sınıfına girer ve serbest radikal oluşumunda önemli bir rol oynar. Hücresel kompartımanlarda bulunan ürat oksidaz, glikoz oksidaz ve D-aminoasit oksidaz gibi birçok enzim, iki elektronun oksijene transferi ile doğrudan hidrojen peroksit oluşumuna sebep olur [35]. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, canlı hücrelerdeki neredeyse her moleküle zarar verebilen en reaktif radikaldır. Bu serbest radikaller, DNA'daki nükleotidlere bağlanabilir ve zincir kırılmalarına neden olabilirler. Bu durum da karsinogenez, mutagenез ve sitotoksisite ile sonuçlanabilir [36]. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin sebep olduğu DNA hasarı, demir gibi geçiş metal iyonlarının varlığında Fenton reaksiyonu yoluyla ve süperoksit radikalinin (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) varlığında Haber-Weiss reaksiyonu yoluyla hidroksil radikalinin (OH•) üretilmesinden kaynaklanmaktadır [35, 37].



Fenton reaksiyonu [35]



Haber-Weiss reaksiyonu [35]

### 1.3 Antioksidanlar ve Oksidatif Stres

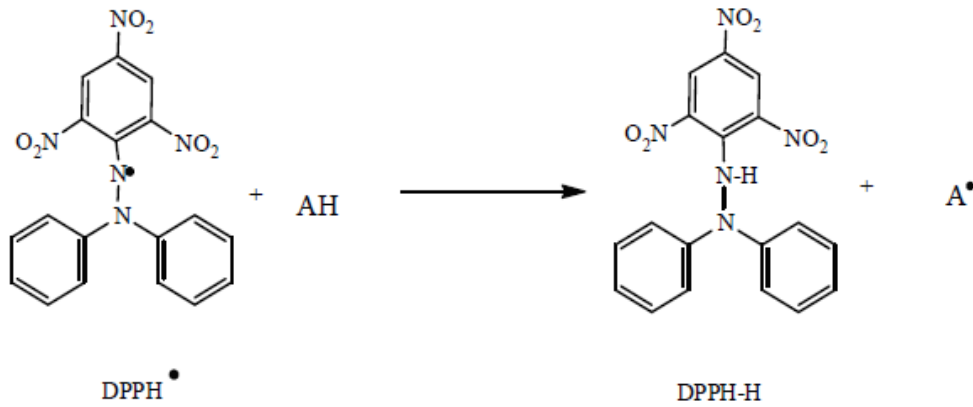
Antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu oksidasyon zincir reaksiyonlarının başlamasını veya yayılmasını önleyen, böylece diğer moleküllerin oksidasyonunu geciktirebilen ve bu şekilde insan vücudundaki oksidatif hasarı azaltabilen bileşiklerdir [38]. Antioksidanlar, insan sağlığının korunmasında önemli bir rol oynamaktadır [39]. Antioksidanlar, oksidatif hasarın DNA üzerindeki etkisini ve hücre bölünmesindeki anormal artışı azaltarak kansere karşı koruyucu bir etki gösterirler [32]. Antioksidanlar ayrıca hava kirliliğinden kaynaklanan çevresel strese karşı da yararlıdır [40].

Canlı sistemler, çeşitli nedenlerden dolayı aşırı miktarda üretilen serbest radikaller ile bu radikallerin detoksifikasyonundan sorumlu olan antioksidanlar arasında kurulu hassas bir dengeye sahiptir. Biyolojik sistemlerdeki serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar yönünde bozulması oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır [35, 41]. Oksidatif stres nedeniyle lipidler, proteinler, enzimler, karbonhidratlar ve DNA zarar görebilir, membranlarda bir hasar oluşması durumunda DNA zincirlerinde rastgele kırılmalar veya bağlanmalar meydana gelebilir, enzim ve yapısal proteinlerin zarar görmesi hücre ölümüne yol açabilir [42]. Ayrıca oksidatif stres, yaşlanma sürecinde ve

kardiyovasküler, nörodejeneratif ve enflamatuar hastalıklar, kanser ve diyabet dahil olmak üzere birçok hastalığın patogenezinde kritik bir rol oynar [43]. Sigara, viral enfeksiyonlar, yangı, iskemi-reperfüzyon, geçiş metallerinin aşırı birikimi, kanser ilaçları ve radyasyon gibi birçok neden oksidatif stresi artırabilir [32].

### 1.3.1 DPPH

DPPH yöntemi, antioksidan aktiviteyi ölçmek için kullanılan en yaygın spektrofotometrik yöntemlerden biridir [44]. DPPH radikal süpürme aktivitesi yönteminde kullanılan serbest radikal DPPH• (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), 517 nm’de absorbans veren organik yapılı, koyu menekşe renkli bir maddedir. Bu serbest radikal, antioksidan maddeler ile kimyasal tepkimeye girdiğinde, radikal olmayan DPPH-H molekülüne dönüşmektedir (Şekil 1.3). DPPH-H molekülü 517 nm’de absorbans vermediğinden dolayı absorbans miktarının azalmasıyla antioksidan aktivite hesaplanabilmektedir [34, 41]. DPPH yöntemi, antioksidan aktiviteyi değerlendirmek için geçerli, ucuz, hızlı, kolay ve ekonomik bir yöntem olarak kabul edilmektedir çünkü DPPH radikali sabittir ve üretilmesi gerekmemektedir. Bu yöntemin avantajı, DPPH reaktifinin en zayıf antioksidanlar da dahil olmak üzere karışımdaki tüm maddelerle reaksiyona girebilmesi ve aynı zamanda lipofilik ve hidrofilik antioksidanlarla da reaksiyona girebilmesidir [44]. Ancak ışığa, oksijene ve kirliliğe olan hassasiyeti bu metodun kullanımında bazı sınırlamalara yol açmaktadır [45].

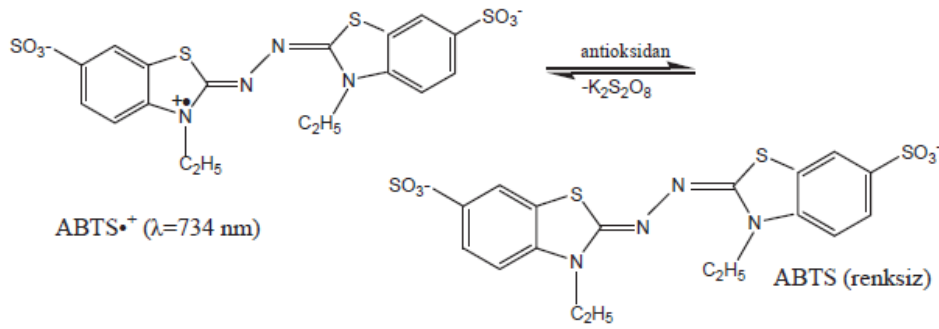


Şekil 1.3: DPPH• radikalinin bir antioksidan tarafından giderilmesi [34].

### 1.3.2 ABTS •

Bu yöntemde ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)) ve persülfatın oksidasyonu sonucunda ABTS•<sup>+</sup> serbest radikalleri oluşturulur. Bu serbest radikal, toplam

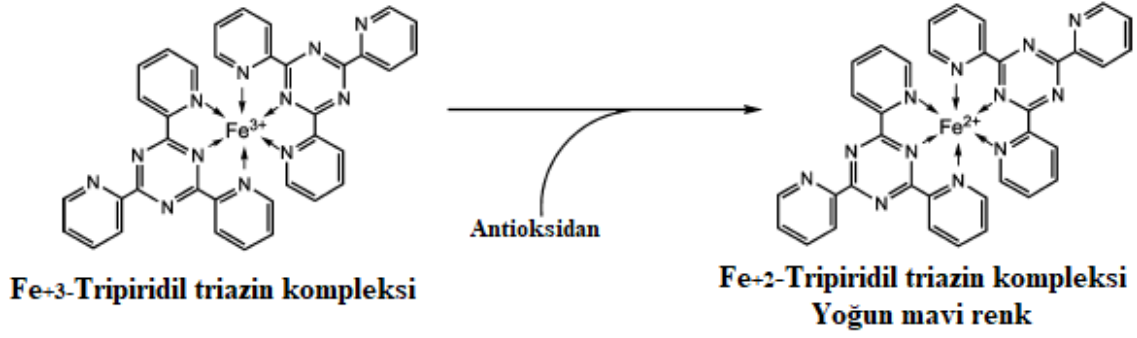
radikal süpürme kapasitesini ölçmek amacıyla kullanılır. Bu yöntem, antioksidan bileşikler tarafından ABTS'nin rengini kaybetmesi temeline dayanmaktadır (ekil 1.4) [41]. Bu yöntem, uygulamasının kolay olması, geniş bir pH aralığında stabil ABTS radikali ve düşük redoks potansiyeli gibi birçok nedenden dolayı antioksidan aktivite kapasitesi belirleme çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır.  $ABTS^{\bullet+}$  radikali, suda ve organik çözücüler içinde çözündüğünden dolayı lipofilik ve hidrofilik bileşiklerin antioksidan aktivite kapasitesinin araştırılması için uygun bir yöntemdir [31].



**Şekil 1.4:** ABTS'nin reaksiyon mekanizması [41].

### 1.3.3 FRAP

Antioksidan aktivitenin belirlenmesinde sıklıkla kullanılan bu yöntem, antioksidan bir maddenin, asidik bir ortamda elektron vermesiyle renksiz bir demir kompleksinin ( $Fe^{3+}$ -tripiridiltriazin), yoğun mavi renkli bir demir kompleksine ( $Fe^{2+}$ -tripiridiltriazin) indirgenmesine dayanmaktadır (ekil 1.5). Bu renk değişimini 593 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Sonuçlar, demirli iyon standart solüsyonu ve genellikle trolox kullanılarak hesaplanmaktadır [46, 47]. 593 nm'de alınan absorbanlardaki artış, çalışılan örnekteki antioksidanların ferrik indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) ile orantılıdır [48]. Bu yöntemin en önemli avantajları hızlı, ucuz, sağlam ve basit olmasıdır [41]. FRAP testinin önemli bir dezavantajı ise sulu bir çözeltiye (asetat tamponu) dayalı olmasıdır. Bu yüzden yöntem, hidrofilik maddelerin çalışılması için uygundur ancak hidrofobik maddelerin çalışılması için yöntemin modifiye edilmesi gerekmektedir [47].



**Şekil 1.5:** Bir antioksidan madde tarafından  $Fe^{+3}$ -TPTZ kompleksinin  $Fe^{+2}$ -TPTZ kompleksine indirgenmesi [49].

#### 1.4 Antibakteriyel Aktivite

Antibakteriyel aktivite testleri, incelenen maddenin, mikroorganizmaların üremesi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla kullanılmaktadır [50]. Antibakteriyel aktiviteyi belirlemek için kullanılan *in vitro* testler penisilin keşfine kadar dayanmaktadır [51]. Bakteriyel enfeksiyonlar, önemli enfeksiyon hastalıklarından olduğu için farklı kaynaklardan antimikrobiyal ilaç geliştirme çalışmaları hala devam etmektedir [52]. Tıbbi bitkiler, enfeksiyon hastalıkları ile mücadele etmeye yardım eden çok sayıda fitokimyasal içermektedir [53]. Halk tarafından kullanılan bitkiler, antimikrobiyal bileşikler için yeni potansiyel kaynaklar olduğundan dolayı bilimsel açıdan araştırmaları oldukça önemlidir [8].

##### 1.4.1 Disk Difüzyon Yöntemi

Bu yöntem, katı besiyerine inokule edilen mikroorganizmalar ile besiyerinin yüzeyine yerleştirilen disklerden yayılan antimikrobiyal maddelerin birlikte üremesi esasına dayanmaktadır. İncelenen maddenin antimikrobiyal aktivitesi, disklerin çevresinde oluşan üremenin engellendiği zonlar ölçülerek belirlenir. Bu yöntem, uygulama kolaylığından dolayı en çok kullanılan yöntemlerdendir [50].

#### 1.5 Hücre Kültürü ve Sitotoksisite

Hücre kültürü, çok hücreli organizmalara ait hücrelerin, laboratuvar ortamında özel olarak tasarlanmış kaplarda, ısı, nem, besin gibi ortam şartlarının kontrol edilerek kontaminasyonlardan uzak bir şekilde yaşatılmasıdır [54]. Hücre kültürü çalışmaları, ağırlıklı olarak aşı, monoklonal antikor, protein üretimi, DNA ve RNA replikasyon ve

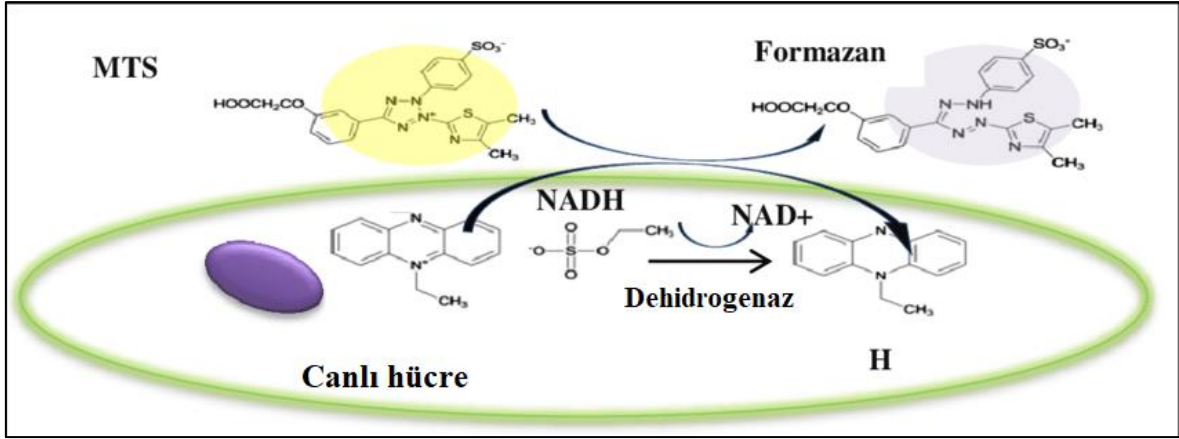
ekspresyon çalışmaları, sinyal iletim yollarının ortaya çıkarılması, ilaçlar da dahil olmak üzere tüm kimyasalların toksisitesinin belirlenmesi ve kök hücre tedavisi gibi çeşitli amaçlar için yapılmaktadır [55].

Sitotoksosite, incelenen maddenin dozuna ve maruz kalma süresine bağlı olarak hücrelerde değişik derecelerde hasar oluşmasına neden olan bir olaydır. Hücreler, sitotoksik maddelere maruz kaldığında apoptoz, otofaji ve nekroz gibi olaylar sonucunda ölebilir ya da sitostazis nedeniyle proliferasyon özelliklerini kaybedebilirler. Sitotoksosite çalışmaları, bir maddenin sitotoksik potansiyelinin olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılır [54]. Hücre hatlarının kullanıldığı *in vitro* sitotoksosite testleri, ilaç etken maddelerinin, doğal maddelerin ve kimyasalların sitotoksitesinin belirlenmesi amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır [56]. Çünkü *in vitro* sitotoksosite testleri, hızlı ve ucuzdurlar ayrıca hayvan kullanımını da gerektirmezler. Bunlara ek olarak, çok sayıda numuneyi test etmek için de uygundurlar [57].

Günümüze kadar; hücre canlılığını veya sitotoksositeyi değerlendirmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler, morfolojik değişikliklere, hücre zarlarının geçirgenliğindeki değişikliklere veya hücresel aktivitelerin bozulmasına dayanmaktadır. Hücre canlılığını değerlendirme yöntemlerinden biri kalorimetrik yöntemlerdir [58]. Tetrazolyum tuzları elektron alarak renk değişimine sebep olan formazan denilen bir maddeye indirgenirler. Tetrazolyum tuzlarının indirgenmesi aktif mitokondriyal enzimler aracılığı ile gerçekleşir ve renk değişimi de sadece canlı hücrelerde gözlemlenir [54]. Bu nedenle oluşan formazan maddesinin miktarı canlı hücre sayısı ile orantılıdır [58].

### **1.5.1 MTS Testi**

MTS testi (5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4,5-dimetil tiyazol)-3-(4-sülfofenil) tetrazolyum), kolorimetrik bir yöntemdir. Bu test, canlı hücrelerin mitokondriyal aktivitesi ile tetrazolyum tuzlarının renki formazan ürününe indirgenmesi esasına dayanmaktadır (Şekil 1.6). Üretilen formazan miktarı kültürdeki canlı hücre sayısına bağlıdır ve 490 nm’de spektrofotometre ile ölçülebilir. Hızlı, duyarlı, ekonomik ve spesifik bir *in vitro* sitotoksosite testidir [57].



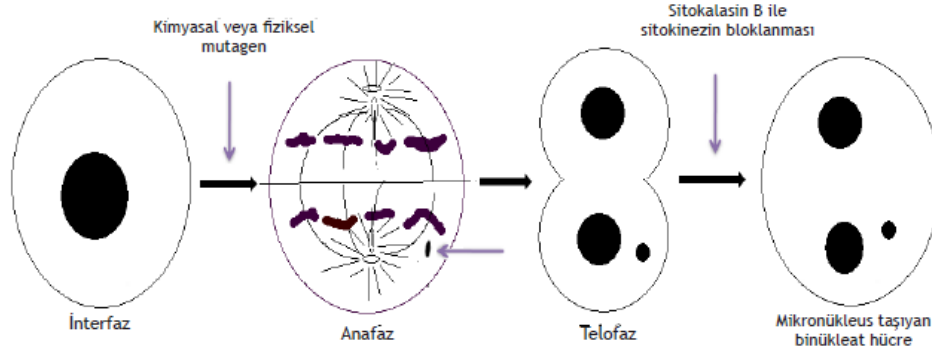
**Şekil 1.6:** Canlı hücrelerdeki aktif mitokondri tarafından tetrazolyum tuzu MTS'in formazan maddesine indirgenmesi [59].

## 1.6 Genotoksisite

Genotoksisite; çekirdek, kromozom ve DNA'nın yapısında meydana gelen DNA eklentileri, DNA kırıkları, gen mutasyonları, kromozom anormallikleri, klastojenite ve anöploidi gibi hasarları içine alan genel bir terimdir. Genotoksisite testleri, 1970'lerden beri kullanılmaktadır ve günümüze kadar mutajenik ve genotoksik maddelerin kanserojen potansiyellerini ölçebilmek amacıyla birçok genotoksisite testi geliştirilmiştir. Genotoksisite testleri, mutajenlerin tanımlanmasını, insanda risk tespitinin yapılmasını ve bu maddelere gereksiz maruziyetin önlenmesini sağlar [60].

### 1.6.1 Mikronükleus

Mikronükleus (MN), hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan bir yapıdır. Esas çekirdeğe dahil değildir ve tam kromozom veya asentrik kromozom fragmanlarından köken almaktadır [61]. Mikronükleus yöntemi, nükleer bölünmesini tamamlamış ancak sitoplazma bölünmesi aktin polimeraz inhibitörü olan sitokalsin-B ile engellenen hücrelerde çekirdek dışında kalan genetik materyallerin belirlenmesine dayanmaktadır (Şekil 1.7). Bu yöntem kullanılarak kromozom kayıpları ve kromozom kırıkları doğru bir şekilde ölçülüp değerlendirilebilmektedir [62]. Hücrelerdeki mikronükleus sayısında tespit edilen artış, somatik hücrelerdeki genomik kararsızlığın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir [63].



**Şekil 1.7:** Sitokinezin bloklanması yöntemiyle MN içeren binükleat hücrenin oluşumu [63].

## 1.7 Biyouyumluluk

Biyoyumluluk genel olarak bir maddenin vücut dokuları ile fiziksel, kimyasal ve biyolojik uyumunu ifade etmektedir. Biyoyumlu maddeler, vücudun mekanik davranışlarına optimum uyum sağlarlar [64]. Ayrıca biyoyumlu maddeler canlı sistemlerde herhangi bir yaralanma, toksisite veya organizma tarafından reddedilme gibi riskler taşımazlar [65].

### 1.7.1 Hemouyumluluk

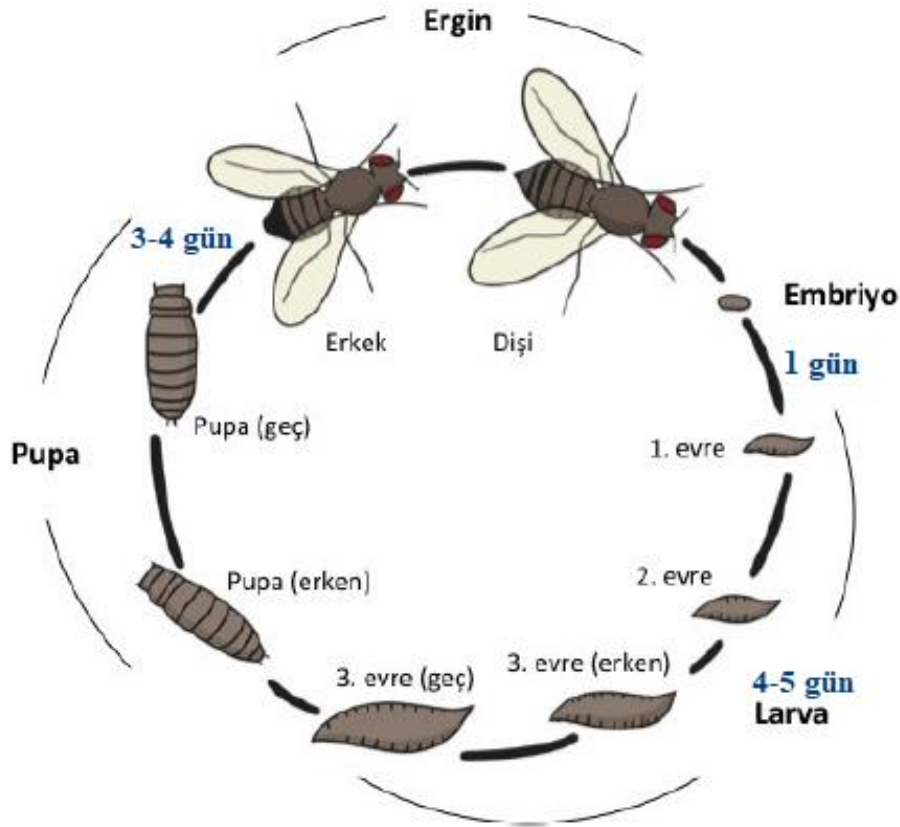
Kanın ana hücresel bileşenleri eritrositler, lökositler ve trombositlerdir [66]. Hemoliz, eritrosinlerin parçalanmasıyla hemoglobinin içeriğinin hücre dışına yayılması durumudur. Hemolitik anemiler, uygun olmayan kan transfüzyonları, bakteri veya hayvan toksinleri gibi *in vivo* ya da ozmotik parçalanma, fiziksel, mekanik veya kimyasal etkiler gibi *in vitro* sebepler hemolize neden olabilir [67]. Hemouyumlu maddeler, hemolize neden olmadan kanla etkileşebilen maddelerdir. Hemoliz, kan plazmasındaki hemoglobinin miktarının belirlenmesiyle değerlendirilebilir. Plazmadaki hemoglobinin seviyesinin yüksek olması, hasar nedeniyle eritrositlerden hemoglobinin salındığını gösterir [68].

## 1.8 *In vivo* Toksisitenin *Drosophila melanogaster* ile Belirlenmesi

Son yıllarda toksikolojik çalışmalarda model organizma olarak yüksek hayvanların kullanımını azaltmak için alternatif *in vivo* modeller geliştirilmeye başlanmıştır. *Drosophila melanogaster*, genetik ve gelişim biyolojisi çalışmalarında yıllardır kullanılan bir böcek modelidir. Avrupa Alternatif Yöntemlerin Doğrulanması Merkezi (ECVAM), *Drosophila*'nın araştırma ve test için uygun bir model olduğunu önermiştir ve *Drosophila* son on yıldır insan hastalıkları ve toksikolojik araştırmalarda kullanılan en güçlü



modellerden biri olmuştur [69]. *Drosophila melanogaster* (meyve sineği), deneysel bir sistem olarak birçok avantaja sahiptir. Kısa sürede üremelerine (Şekil 1.8) ek olarak yüksek üreme oranına sahiptirler. Bakımları kolay ve ucuzdur. Bağışıklık sistemleri memelilerin doğuştan gelen bağışıklık sistemleriyle aynı özelliklere sahiptir. Genomları tam olarak sıralanmış ve iyi bir şekilde açıklanmıştır [70].



Şekil 1.8: *Drosophila melanogaster*'in yaşam döngüsü [71, 72].

### 1.9 Literatür Özeti

Literatüre bakıldığında *Gundelia dersim* bitkisiyle ilgili altı çalışma olduğu görülmektedir. Vitek ve arkadaşları Tunceli (Dersim) ilinde topladıkları bitkiyi incelemişlerdir ve *Gundelia dersim* Vitek, Yüce & Ergin olarak tanımlamışlardır [73]. Genç ve Fırat yaptıkları araştırmada Türkiye'de bulunan 12 *Gundelia* türünün kromozom sayıları ve karyomorfolojisini belirlemeyi amaçlamışlardır. Araştırmacılar bu çalışma sonucunda *Gundelia dersim* bitkisinin Feulgen ile boyanmış somatik metafaz kromozomlarına göre karyotip analizini yapmışlardır. Bu araştırma sonunda bitkinin  $2n=18$  kromozomlu diploid olduğunu bildirmişlerdir [23]. Cádiz-Gurrea ve arkadaşları *Gundelia dersim* bitkisinin farklı

ekstraktları arasında, infüzyon yoluyla elde edilen ekstraktın en yüksek fenolik içeriğe (48.01 mg GAE/g kurutulmuş ekstrakt) sahip olduğunu bulmuşlardır. Araştırmacılar bu çalışma kapsamında bitkinin biyolojik özelliklerini belirlemeyi amaçlamışlardır ve antioksidan aktiviteyi belirlemek için ABTS ve DPPH testlerini; indirgeme potansiyelini belirlemek için ise CUPRAC ve FRAP testlerini kullanmışlardır ve araştırmacılar yaptıkları çalışmaların sonunda *G. dersim*'in infüzyon özütünün (sırasıyla DPPH, ABTS, CUPRAC ve FRAP testleri için 91.27, 138.87, 182.28 ve 125.65 mg TE/g kurutulmuş özüt) yüksek radikal temizleme ve azaltma güç kapasitesi olduğunu göstermişlerdir. *G. dersim* ekstrelerinin farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen enzim inhibitör aktiviteleri de değerlendirilmiştir. Maserasyon yöntemi ile elde edilen *G. dersim* özlerinin butirilkolinesteraza karşı yüksek inhibitör aktivite gösterirken infüzyondan elde edilen *G. dersim* ekstraktlarının hem asetilkolinesteraz hem de butirilkolinesteraza karşı aktivite göstermediği bulunmuştur [26]. Araştırmacı Çakılcıoğlu, Tunceli'de doğal yayılış gösteren 4 *Gundelia* türünün (*G. vitekii*, *G. dersim*, *G. munzuriensis*, *Gundelia glabra* Miller) geleneksel kullanımlarını araştırmıştır ve *G. dersim*'in beslenme ve tıbbi amaçlı kullanıldığını bildirmiştir [28]. Ateş ve arkadaşları Türkiye'deki *Gundelia* türlerinin filogenetik ilişkilerini, evrimsel ayrışma zamanını ve tarihsel biyocoğrafik dağılımını incelemek amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışma sonucunda ilgili türlerin üç atasal grup altında toplanabileceğini bildirmişlerdir [24]. Ertaş ve arkadaşları 17 farklı *Gundelia* türünün etanol ve hekzan ekstraktlarının fitokimyasal analizini LC/MS/MS ve GC/MS ile, antioksidan potansiyelini ABTS, DPPH ve CUPRAC testlerini kullanarak araştırmışlardır. Ayrıca bu çalışmada *Gundelia* türlerinin enzim inhibisyon aktiviteleri de araştırılmıştır. Araştırmacıların elde ettikleri GC/MS sonuçlarına göre *G. dersim* etanol ekstraktında klorojenik asit (2037.76 µg/g ekstrakt) ana bileşik olarak tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite sonuçları %50 inhibisyon konsantrasyonları belirlenerek verilmiştir ve *G. dersim* etanol ekstraktları için sırasıyla ABTS, DPPH ve CUPRAC testlerinin sonuçları 293.81±5.12, 537.88±4.29 ve 100.00±2.09 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Bu araştırma sonucunda son olarak *G. dersim* etanol ekstraktının 200 µg/mL'de asetilkolinesteraza karşı inhibisyon aktivitesi göstermediği ve bütilkolinesteraz, üreaz ve trozinaz enzimlerine karşı gösterdiği % enzim inhibisyon değerlerinin sırasıyla 32.78±0.12, 15.75±0.81 ve 31.31±0.80 olduğu bildirilmiştir [74].

Dalar ve arkadaşları *Gundelia rosea* bitkisinin tohum kısımlarının etanol ekstraktının fitokimyasal içeriğini HPLC ile araştırmışlardır ve ana bileşenin 4-kafeoilkinik asit (50.1±1.4 mg/g ekstrakt) olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar bu çalışmada

ekstraktların antioksidan aktivitesini belirlemek amacıyla FRAP, CUPRAC, ORAC, DPPH ve ABTS testlerini kullanmışlardır. Bu testler için sırasıyla  $1683.3 \pm 71.4 \mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{g}$  ekstrakt,  $214.1 \pm 3.7 \text{ mg Trolox eşdeğeri} / \text{g}$  ekstrakt,  $2241.9 \pm 42.7 \mu\text{mol Trolox eşdeğeri} / \text{g}$  ekstrakt,  $91.7 \pm 3.5$  ve  $141.2 \pm 2.1 \text{ mg Trolox} / \text{g}$  ekstrakt değerleri bulunmuştur [27]. Çoruh ve arkadaşları *G. tournefortii* L. metanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesini DPPH testini kullanarak araştırmışlardır. Hesaplanan  $\text{IC}_{50}$  değerleri tohum ve yaprak kısımları için sırasıyla  $0.073$  ve  $0.442 \text{ mg/mL}$  olarak bulunmuştur [75]. Jamshidzadeh ve arkadaşları *Gundelia tourenfortii* bitkisinin kurutulmuş hidroalkolik ekstraktının farklı konsantrasyonlarının etkilerini, sıçanlarda ve izole sıçan hepatositlerinde  $\text{CCl}_4$ 'ün neden olduğu hepatotoksisiteyi araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonunda araştırmacılar  $\text{CCl}_4$ 'ün sıçan karaciğerinde histopatolojik hasara ve izole sıçan hepatositlerinde sitotoksisiteye neden olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca karaciğer enzimleri ALT, AST ve ALP ve bilirubinin serum seviyesini artırdığını tespit etmişlerdir.  $200$  ve  $300 \text{ mg/kg}$  konsantrasyonlu *Gundelia tourenfortii* hidroalkolik ekstreleri, sıçan karaciğerini  $\text{CCl}_4$ 'ün neden olduğu hasarlara karşı korumuş ve serum ALT, AST ve ALP seviyelerini düşürmüştür. İzole hepatositlerle yapılan sitotoksisite çalışmaları ise yüksek konsantrasyonlarda *Gundelia tourenfortii* hidroalkolik özütünün hücreler için toksik olduğunu ortaya çıkarmıştır [76]. Kadan ve arkadaşları *G. tournefortii* heksan ve metanol ekstraktlarının toksisitesini L6-GLUT4 myc hücreleri üzerinde *in vitro* olarak MTT ve LDH sızıntı deneyini kullanarak test etmişlerdir ve araştırmacılar heksan ve metanol ekstraktlarının  $250 \mu\text{g/mL}$ 'ye kadar güvenli olduğunu bulmuşlardır [77]. Zhaleh ve arkadaşları *Gundelia tournefortii* L. yapraklarının sulu ekstresinin sitotoksisitesini HUVEC hücreleri üzerinde MTT ile belirlemişlerdir. Yapılan bu çalışma sonucunda  $48$  saat boyunca MTT ile izlenen hücrelerin  $1000 \mu\text{g/mL}$ 'ye kadar olağanüstü canlılık gösterdiği bildirilmiştir [78].

Jaramillo-García ve arkadaşları Brezilya ve Kolombiya'dan toplanan *B. trinervis* (Asteraceae)'in kimyasal bileşenlerini HPLC ile belirlemişlerdir. HPLC sonucunda kafeik, rosmarinik ve ellagik asitler, luteolin ve rutin *B. trinervis*'te ilk kez bu çalışmada tanımlanmıştır. Araştırmacılar *B. trinervis* ekstraktlarının ve fraksiyonlarının Çin Hamsteri Yumurtalık (CHO) hücrelerindeki sitotoksik ve genotoksik etkilerini MTT ve mikronükleus testleriyle araştırmışlardır. Brezilya'dan toplanan *B. trinervis* fraksiyonlarının (su, etil asetat, butanol, sulu kalıntı) MTT testinde  $0.05 \text{ mg/mL}$ 'den yüksek konsantrasyonlarda CHO hücrelerinin hayatta kalmasında önemli bir düşüş gösterirken Kolombiya'dan toplanan *B. trinervis* negatif kontrole kıyasla  $0.05 \text{ mg/mL}$ 'de hücre yaşamlılığında önemli bir düşüşe

neden olduğu bulunmuştur. Mikronükleus testi sonucunda ise her iki ülkeden de toplanan *B. trinervis*'in su ve bütanol ekstreleri ile sulu kalıntı fraksiyonları mikronükleus insidansını artırmadığı ancak etil asetat fraksiyonlarının mikronükleus oluşumunda 0.5 mg/mL'de önemli bir artış gösterdiği bildirilmiştir [5]. Araştırmacı Attard ve Cuschieri, Asteraceae familyasından on bitkinin (*Dittrichia viscosa* (L.) Greuter, *Inula crithmoides* L., *Calendula arvensis* L., *Sonchus oleraceus* L., *Reichardia picroides* (L.) Roth, *Aster squamatus* (Sprengel) Hieron., *Glebionis coronaria* (L.) Tzveros, *Leontodon tuberosus* L., *Galactites tomentosa* Moench ve *Carlina involucrata* Poir.) petrol eteri, kloroform, etanol, %50 su-etanol ve sulu ekstrelerinin sitotoksik etkilerini insan periferik T-lenfositleri üzerinde *in vitro* olarak WST-1 ve LDH testleri ile incelemiştir. WST-1 testinin sonuçları *C. arvensis*'in PHA ve petrol eteri özütünün, diğer özütlere kıyasla çoğalmada bir artış göstermiştir. LDH tahlili sonuçları ise en zehirli özütün *I. crithmoides* petrol eteri özütü, en azının ise *Glebionis coronaria* özütü olduğunu ortaya çıkarmıştır [21]. Szokalo ve arkadaşları *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae) bitkisinin sulu ekstraktlarının sitotoksik ve genotoksik etkilerini CHO-K1 ve HepG2 hücre hatları üzerinde MTT ve mikronükleus testleri ile belirlemiştir. Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar, her iki hücre hattı için de ekstrakt konsantrasyonları arttıkça hücre canlılığının azaldığını ve CHO-K1 hücrelerinde mikronükleus sıklığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken HepG2 hücrelerinde seçilen dört dozun sadece üçünde (266.8, 400.2, 533.6 µg/mL) istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğunu göstermektedir [79]. Çelikezen ve arkadaşları Asteraceae familyasından olan *Centaurea behen* bitki esansiyel yağının insan kan kültürü üzerindeki sitotoksik aktivitesini MTT ve LDH testleri ile belirlemeyi amaçlamışlar ve yaptıkları çalışmanın sonucunda her iki testte de bitki esansiyel yağının toksik etki gösterdiğini bildirmişlerdir [15]. Naik ve arkadaşları *Artemisia nilagirica* ve *Murraya koenigii*'nin etanol, petrol eteri ve su özütleri ekstrelerinin sitotoksitesini MTT testi ile; genotoksitesini ise fare makrofaj RAW264.7 hücre hatlarını kullanarak DAPI boyama ve COMET analizi ile incelemiştir. Bu çalışmalar sonucunda araştırmacılar, *A. nilagirica* ve *M. koenigii*'nin etanol ekstrelerinin fare makrofajlarında artmış sitotoksite, DNA hasarı ve apoptoza sebep olduğunu bildirmişlerdir [80]. Sabini ve arkadaşları Asteraceae familyasının bir türü olan *A. saturoioides*'in soğuk sulu ekstresinin sitotoksite, genotoksite ve apoptotik yeteneğini araştırmışlardır. Sitotoksiteyi tripan mavisi testi ve MTT ile değerlendirmiş ve bitkinin sitotoksik olmadığını bulmuşlardır. Apoptotik kapasiteyi, Hoechst boyama ve DNA fragmentasyon analizi ile değerlendirmişler ve insan PBMC'leri üzerinde apoptotik etkilere neden olmadığını göstermişlerdir. Genotoksiteyi ise kuyruklu yıldız tahlili ve mikronükleus testi ile değerlendirmişler ve

bitkinin soğuk sulu ekstresinin genotoksik etki göstermediğini bildirmişlerdir [81]. Jacoclonas ve arkadaşları CHO hücreleri üzerinde etilmetan sülfonat tarafından indüklenen DNA hasarına karşı *Cynara scolymus* L. (enginar) yaprak özütünün koruyucu etkisini mikronükleus testini kullanarak araştırmışlardır. Elde ettikleri bulgulara göre düşük konsantrasyonlarda *Cynara scolymus* L. yaprak özütü hücreleri hasardan korurken yüksek konsantrasyonlarda genotoksisiteyi artırarak mikronükleus sıklığını yükseltmiştir [82]. Sowa ve arkadaşları Asteraceae familyasından üç bitkinin (*Tanacetum vulgare* L. (tansy), *Achillea millefolium* L. (civanperçemi) ve *Solidago gigantea*) etanolik ekstraktlarının antioksidan aktivitesini DPPH ve FRAP testleri ile ve sitotoksik etkisini MTS ile belirlemişlerdir. Araştırılan bu üç bitki içerisinde en yüksek antioksidan aktiviteyi *Solidago gigantea* (DPPH ve FRAP değerleri sırasıyla;  $272.47 \pm 5.68$  ve  $272.25 \pm 19.94$   $\mu\text{mol Trolox eşdeğeri/g}$ )'nın gösterdiği bulunmuştur. MTS testinin bulgularında *Tanacetum vulgare* L. ve *Achillea millefolium* L. bitkilerinin (125-1000  $\mu\text{g/mL}$ ) sitotoksik etki gösterirken *Solidago gigantea* özütlerinin sitotoksik olmadığı ve 125  $\mu\text{g/mL}$  dozu için hücre yaşamlılığını desteklediği görülmüştür ( $p < 0.001$ ) [56]. Rosa ve arkadaşları yaptıkları çalışmada MTS testi ile *Achyrocline alata*'nın (Asteraceae) etanolik ekstrelerinin insan hepatoselüler karsinom hücre hatları için sitotoksik olduğunu ancak normal birincil insan hepatositleri için ise sitotoksik olmadığını bulmuşlardır [3].

## 2. YÖNTEM

### 2.1 Materyal

#### 2.1.1 Kullanılan Kimyasallar

- Saf su
- Metil alkol
- Etil alkol
- DPPH Reaktifi
- ABTS Reaktifi
- Potasyum peroksidisülfat
- Gallik asit
- Asetat tamponu
- TPTZ
- HCl
- Mueller hinton agar
- RPMI 1640 Besiyeri
- Fetal Bovine Serum
- Penisilin / Streptomisin
- Phytohemaglutinin
- Ficoll-Paque Plus
- NaCl
- MTS reaktifi
- Sitokalsin B
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- KCl
- Glasiyel asetik asit
- Formaldehit
- Giemsa boyası
- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>
- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>
- Agar
- Propiyonik asit
- Mikostatin- Deva Holding-228/97

### 2.1.2 Kullanılan Cihazlar

- Çalkalamalı inkübatör : Gerhardt
- Evaporatör : Heidolph
- Vorteks : Warning
- HPLC cihazı : Agilent Technologies
- Biyogüvenlik kabini : Labconco
- Mikroplaka okuyucu : Thermo Scientific
- Manyetik karıştırıcı : Heidolph
- pH metre : Hanna Instruments
- Hassas terazi : Denver Instruments
- Otoklav : Hirayama
- Saf su cihazı : Human Power I
- CO<sub>2</sub>'li inkübatör : Nuaire
- Etüv : Memmert
- Soğutmalı santrifüj : Hettich Rotina 380 R
- Sıcak su banyosu : Elma Sonic
- Işık mikroskopu : Olympus
- Buzdolabı (+4°C) : Regal
- Buzdolabı (-20 °C) : Altus

## 2.2 Metot

### 2.2.1 Bitki Materyallerinin Temini

Endemik bir tür olan *Gundelia dersim* Vitek, Yüce & Ergin bitkisinin toprak üstü kısımları, bitkinin çiçeklenme dönemi sırasında, Tunceli (Türkiye) iline bağlı olan Aktuluk mahallesinden, yaklaşık olarak 1000 m yükseklikten, 2020 yılının haziran ayında, Dr. Öğretim Üyesi Mikail Acar tarafından toplanmıştır ve teşhis edilmiştir.

### 2.2.2 Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

#### 2.2.2.1 Su Ekstraktlarının Hazırlanması

Bitkinin havada kurutulmuş ve toz haline getirilmiş 5 gram yaprak ve çiçek kısmı 50 mL su içerisinde özümlemiş ve bir gece çalkalayıcıda tutulmuştur. Elde edilen ekstrakt bir filtre kağıdı kullanılarak süzümüştür. Daha sonra vakumlu bir evaporatör yardımıyla çözücü uçurulmuştur ve elde edilen bitki özü 10 mL suda çözdürülmüştür [83]. Hazırlanan ekstrakt

hücre kültürü kabini içerisinde steril enjektör ve 0.22 µm gözenekli steril şırınga filtresi kullanılarak steril bir falkon tüp içerisine süzülmüştür ve bu şekilde steril hale getirilen ekstrakt, -20 °C'de deneylerde kullanılıncaya kadar saklanmıştır.

#### **2.2.2.2 Metanol Ekstraktının Hazırlanması**

Bitkinin havada kurutulmuş ve toz haline getirilmiş yaprak ve çiçek (5 gram) kısmı, bir çalkalayıcı inkübatör kullanılarak 50 mL metanol ile özümlemişdir. Bitki özü, filtre kağıdı kullanılarak süzülmüştür. Süzülen ekstrakt, evaporatör kullanılarak konsantre edildikten sonra 10 mL suda çözdürülmüştür. Hazırlanan ekstrakt hücre kültürü kabini içerisinde steril enjektör ve 0.22 µm gözenekli steril şırınga filtresi kullanılarak steril falkon tüp içerisine süzülmüştür. Ekstrakt daha sonra ve deneylerde kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır [83].

#### **2.2.2.3 Etanol Ekstraktının Hazırlanması**

Yaklaşık 5 gram, havada kurutulmuş yaprak ve çiçek kısmı 50 mL etanolde özümlemişdir ve gece boyunca bir çalkalayıcıda tutulmuştur. Elde edilen ekstrakt bir filtre kağıdı kullanılarak süzülmüştür. Daha sonra vakumlu bir evaporatör yardımıyla çözücü uçurulmuştur ve elde edilen bitki özü 10 mL suda çözdürülmüştür [83]. Hazırlanan ekstrakt hücre kültürü kabini içerisinde steril enjektör ve 0.22 µm gözenekli steril şırınga filtresi kullanılarak steril falkon tüp içerisine süzülmüştür. Steril olan bu ekstrakt -20 °C'de deneylerde kullanılıncaya kadar saklanmıştır.

### **2.2.3 Fitokimyasal Analiz**

#### **2.2.3.1 HPLC**

Toz hale getirilmiş olan *Gundelia dersim* bitkisinden 1 gram tartılmıştır ve üzerine 10 mL %70'lik etanol eklenmiştir. 20 dk ultrasound işlemine tabii tutulduktan sonra filtre kağıdı ile süzülmüştür. Süzülme işleminden sonra kalan posa %70'lik etanol ile yıkanmıştır ve elde edilen ekstraktlar temiz bir balon joje içerisinde birleştirilmiştir. Evaporatör kullanılarak ekstraktın çözücüsü uzaklaştırılmıştır. Evaporatör işleminden sonra balonun dibinde kalan katı kısım 5 mL etanol içerisinde çözdürülmüştür. Bu çözeltiden 1 mL alınarak 0.45 µm'lik filtreden geçirilmiştir. Daha sonra filtreden geçirilen ekstraktın içerisinden 500 µL alınmıştır ve üzerine 500 µL mobil faz eklendikten sonra HPLC cihazına yüklenmiştir [84].



## 2.2.4 Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Bitki ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri DPPH, ABTS ve FRAP testleri kullanılarak belirlenmiştir.

### 2.2.4.1 DPPH

Bir balon jöje içerisinde 0.024 gram DPPH reaktifi 100 mL metanolde çözdürülmüştür. Reaktif, ışıktan etkilendiği için balon jöje alüminyum folyo ile sarılmıştır ve 1 saat karanlıkta bekletilmiştir. Hazırlanan DPPH reaktifinin absorbansı mikroparka okuyucu ile 517 nm’de ölçülmüştür ve absorbans 1.5-2 arasında olacak şekilde metanol ile seyreltilerek ayarlanmıştır. Kullanılan DPPH reaktifi deneyin yapılacağı gün taze olarak hazırlanmıştır. Standart eğri oluşturmak için gallik asit kullanılmıştır. 1 mg gallik asit 10 mL saf suda çözdürülerek hazırlanmıştır. Gallik asit çözeltisi kullanılmadığı zamanlarda +4 °C’de tutulmuştur. Bitki örnekleri ve gallik asit (1-50 µL) belirlenen miktarlarda 96-well plate kuyucuklarına yüklenmiştir. Her bir kuyucuğun son hacmi 50 µL olacak şekilde saf su ile tamamlanmıştır ve 200 µL DPPH reaktifi eklenerek 1 saat karanlıkta bekletilmiştir. Kontrol olarak metanol kullanılmıştır. Süre sonunda mikroparka okuyucu ile 517 nm’de absorbans ölçümü alınmıştır. Radikal temizleme kapasitesi denklem 2.1 kullanılarak hesaplanmıştır [85]:

$$\text{Antioksidan Aktivite (\%)} = [1 - (\text{örneğin absorbansı} / \text{kontrolün absorbansı})] \times 100 \quad (2.1)$$

### 2.2.4.2 ABTS

Eşit hacimde 7 mM ABTS tuzu (0.0384 gram ABTS + 10 mL metanol) ve 2.4 mM potasyum peroksidisülfat (0.6488 gram potasyum peroksidisülfat + 10 mL metanol) hazırlanmıştır ve karıştırılıp bir gece boyunca +4°C’de saklanmıştır. Daha sonra reaktifin absorbansı 734 nm’de ölçülmüş 1.5-2 arasında olacak şekilde metanol ile seyreltilerek ayarlanmıştır. Bitki örnekleri ve gallik asit 96-well plate’in kuyucuklarına belirlenen miktarda (1-50 µL) konulmuştur. Kuyucukların son hacmi 50 µL olacak şekilde saf su ile tamamlanmıştır. Her kuyucuğa 200 µL ABTS reaktifi eklenerek 30 dk karanlıkta bekletilmiştir. Kontrol olarak metanol kullanılmıştır. Süre sonunda 734 nm’de mikroparka okuyucu ile absorbans ölçülmüştür ve radikal temizleme kapasitesi denklem 2.2 kullanılarak hesaplanmıştır [85]:

$$\text{Antioksidan Aktivite (\%)} = [1 - (\text{örneğin absorbansı} / \text{kontrolün absorbansı})] \times 100 \quad (2.2)$$

### 2.2.4.3 FRAP

10 mM 25 mL asetat tamponu 300 mM (pH=3.6) ve 2.5 mL 2,4,6-tripiridil-triozin (TPTZ) çözeltisi 40 mM HCl ve 20 mM FeCl<sub>3</sub>6H<sub>2</sub>O içerisinde karıştırılarak son hacmi 2.5 mL olacak şekilde taze olarak hazırlanmıştır. Bu karışık çözelti 37°C'de 30 dk boyunca inkübe edilmiştir ve FRAP çözeltisi olarak adlandırılmıştır. Bitki ekstraktları ve 1 mM trolox 96-well plate'e belirlenen miktarlarda (5-50 µL) konulmuştur ve son hacim 300 µL olacak şekilde FRAP çözeltisi ile tamamlanmıştır. 30 dk karanlıkta bekletilen örneklerin absorbansı mikroparka okuyucu ile 593 nm'de ölçülmüştür. Trolox absorbansları kullanılarak standart eğri oluşturulmuştur ve bitki ekstraktlarının antioksidan aktivitesi, oluşturulan bu eğrinin denklemi kullanılarak hesaplanmıştır [41].

### 2.2.5 Antibakteriyel Aktivite

38 gram mueller hinton agar tartılıp 1 litre saf suda manyetik karıştırıcıda kaynayınca kadar çözdürülmüştür. Hazırlanan besiyeri 121 derecede 15 dakika otoklavlanmıştır. Otoklavdan sonra steril petrilere 15 mL besiyeri dökülmüştür ve besiyeri donunca petrilere parafillemlenerek +4'te kullanılıncaya kadar saklanmıştır. Denede gram (-) *Aeromonas spp.* (ATCC-51107), *Escherichia coli* (ATCC-8739), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-9027), *Enterobacter aerogenes* (ATCC-13048) ve gram (+) *Staphylococcus aureus* (ATCC-6538) bakteri suşları kullanılmıştır. 2x10<sup>5</sup> oranında seyreltilen bakterilerden 200 µL alınarak besiyerlerine ekim yapılmıştır ve ekim yapılan besi yerlerinin üzerlerine bitki ekstraktı emdirilen diskler yerleştirilerek, 1 gece 37 °C'de inkübe edilmiştir. Bir gecelik inkübasyondan sonra bitki ekstraktlarının çevresindeki zon çapı ölçülerek bakterilerin, bitki ekstraktlarına karşı dirençleri belirlenmiştir [86].

### 2.2.6 Hücre Kültürü İşlemleri

#### 2.2.6.1 Malzemelerin Sterilizasyonu

Tüm deneyler için kullanılan pipet uçları ve tüpler 121 °C'de 20 dk otoklavda steril edilmiştir. Hücre kültürü laboratuvarı ve biyogüvenlik kabini kullanılmadığı zamanlarda UV lamba ile sterilize edilmiştir. Çalışmaya başlamadan en az yarım saat önce biyogüvenlik kabini çalıştırılmıştır ve çalışma ortamının steril olması sağlanmıştır. Çalışmaya başlamadan önce ve çalışma bittikten sonra kabin yüzeyi çamaşır suyu ve %70'lik etanol ile temizlenmiştir.

### **2.2.6.2 Kullanılan Besiyerinin Hazırlanması**

500 mL'lik RPMI 1640 besiyerinin içerisine kültür ortamını zenginleştirmek ve hücrelerin çoğalma oranını artırmak için içerisinde hormonlar, enzimler, hücre büyümesini ve çoğalmasını sağlayan büyüme faktörleri, hücrelerin yüzeylere tutunmasını sağlayan hücreler arası matris proteinleri bulunan bir protein çözeltisi olan fetal bovine serum (FBS)'dan 50 mL eklenmiştir. Bakteriyel kontaminasyonu önlemek amacıyla 2.5 mL Penisilin/Streptomisin çözeltisi (Pen/Strep) besiyerine eklenmiştir. Lenfosit hücrelerinin bölünmesini teşvik etmek amacıyla ise 5 mL phytohemaglutinin çözeltisi (1 mg/mL) besiyerine eklenerek şişe köpürmeyecek şekilde hafifçe çalkalanmıştır. Hazırlanan besiyeri kullanılıncaya kadar ve kullanılmadığı zamanlarda +4 °C'de saklanmıştır. Besiyerinin rengi turuncu olmalıdır. Rengin koyu pembe olması besiyerinin bozulduğu anlamına gelmektedir.

### **2.2.6.3 Kandan Lenfosit Hücrelerinin İzolasyonu**

Sağlıklı ve gönüllü kişilerden alınan tam kan EDTA'lı tüplere eklenmiştir. Ficoll-Paque PLUS şişesi kullanmadan önce birkaç kez alt üst edilerek çalkalanmıştır. 7 mL Ficoll-Paque üzerine 3 mL EDTA'lı kan birbirlerine karışmayacak şekilde falkon tüpün kenarından yavaşça eklenmiştir. 1500 RPM'de 30 dk oda sıcaklığında santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir ve santrifüj sonucunda oluşan katmanlardan üstten 2. katmanda toplanan lenfositler pipetle temiz bir tüpe aktarılmıştır. Temiz tüpe alınan lenfositleri yıkamak için üzerlerine 10 mL serum fizyolojik solüsyonu eklenmiştir ve tekrar 1500 RPM'de 10 dk oda sıcaklığında santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Santrifüjden sonra supernatant kısmı atılmıştır ve pellet hazırlanan RPMI 1640 besiyerinde çözdürülmüştür [87]. Hazırlanan besiyeriyle 5 mL'lik kültür ortamları oluşturularak her kültür ortamına 100 µL yeni izole edilen insan lenfosit hücreleri eklenmiştir ve inkübasyona bırakılmıştır.

## **2.2.7 Sitotoksitenin Belirlenmesi**

### **2.2.7.1 MTS Testi**

Her hücre kültürü ortamına belirlenen konsantrasyonlarda (0.1, 0.25, 0.5, 1, 10, 25, 50, 100 mg/L) bitki ekstraktları eklenmiştir. Negatif kontrol olarak kullanılan lenfosit çözeltisine bitki ekstraktı eklenmemiştir. Tüpler 37 °C'de 24 ve 48 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinin sonunda bitki örnekleriyle etkileşen lenfosit hücreleri ve negatif kontroller 10 dk 1500 RPM'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda supernatant kısmı atılmıştır. Dipte toplanan lenfositler ise 300 µL besiyerinde çözdürülerek 3'er tekrarlı halde 96-well plate'e her kuyucuğa 100 µL olacak şekilde paylaştırılmıştır. Daha sonra her

kuyucuğun üzerine 20 µL MTS reaktifi eklenerek 4 saat boyunca 37°C’de inkübe edilmiştir. Süre sonunda 490 nm’de mikropilaka okuyucu ile absorpsiyon ölçümü alınmıştır [88].

## 2.2.8 Genotoksitenin Belirlenmesi

### 2.2.8.1 Mikronükleus Testi

5'er mL'lik RPMI besiyerine, heparinli tüpe alınan kandan 600 µL eklenerek kan kültürleri oluşturulmuştur. Kültürler 72 saatlik inkübasyon için etüve konulmuştur. İnkübasyonun 44. saatinde tüm kültür ortamlarına sitokinezi durdurmak amacıyla 150 µL Sitokalsin-B eklenmiştir. Cyt-B'nin 0.001 gramı 100 µL %70'lik etanolde çözdürüldükten sonra saf su ile 5 mL'ye tamamlanarak hazırlanmıştır. Cyt-B kullanılmadığı zamanlarda -20 °C'de saklanmıştır. 48. saatte ise kültür ortamlarına bitki ekstraktları (50 mg/L) ile bitki ekstraktı (50 mg/mL) ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (6.5 µg/mL) eklenmiştir. Negatif kontrole hiçbir örnek eklenmezken pozitif kontrole 28 µL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenmiştir. Kültürler 72. saatin sonunda 800 RPM'de 8 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra supernatant atılmıştır ve pellet, 7-8 mL 0.075 M KCl eklenerek oda sıcaklığında 4 dk inkübe edilmiştir. 1.379 gram KCl 250 mL steril saf suda çözdürülerek hazırlanmıştır. Kullanılmadığı zamanlarda çözelti +4 °C'de saklanmıştır. 4 dakikalık inkübasyon süresinin sonunda örnekler tekrar 800 RPM'de 8 dk santrifüj edilmiştir ve bu santrifüj sonunda lenfositler tüpün dibine çökmüştür. Lenfositler taze hazırlanan 3:1 metanol; glasiyel asetik asit (metanol -20°C'de, asetik asit oda sıcaklığında; fiksatif deney günü taze olarak hazırlanmıştır) ile 15 dk boyunca 15-20 saniyede bir 1'er mL sallaya sallaya eklenerek fikse edilmiştir ve son hacim fiksatif ile 7 mL'ye tamamlanmıştır. Daha sonra her tüpe 1-2 damla formaldehit eklenerek tüpler 15 dk 800 RPM'de santrifüj edilmiştir. Bu fiksasyon işlemi iki kere daha tekrarlanmıştır. 2 ve 3. santrifüjler 10 dk yapılmıştır. Son santrifüjden sonra tüplerde 0.5 mL pellet bırakılarak soğuk etanolde saklanan lamlara yukarıdan damlatma yöntemi ile damlatılmıştır ve lamlar kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan preparatlar taze olarak hazırlanan %5'lik Giemsa solüsyonu ile şale içerisinde 15 dk boyanmıştır. Giemsa boyası, 5 mL giemsa ve 95 mL sorrenson tamponu (56 mL Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ve 44 mL KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> karıştırılarak pH=6.8 olarak ayarlanmıştır) karıştırılıp hazırlanmıştır ve süzöldükten sonra kullanılmıştır. Boyama işleminden sonra saf su ile durulanan preparatlar kurutulup ışık mikroskopu ile 400X objektifinde hücre sayımı yapılmıştır. İncelenen binükleer hücrelerin içerisinde mikronükleuslu olanlar saptanarak ‰ mikronükleus oranı hesaplanmıştır. Mononükleuslu, binükleuslu, trinükleuslu ve tetranükleuslu hücreler sayılarak denklem 2.3'te verilen formül ile nükleer bölünme indeksi (NDI) hesaplamada kullanılmıştır [83, 89, 90]:

$$NDI = [(1 \times N_1^a) + (2 \times N_2^b) + (3 \times N_3^c) + (4 \times N_4^d)] / (N_1 + N_2 + N_3 + N_4) \quad (2.3)$$

<sup>a</sup>mononükleuslu hücre sayısı, <sup>b</sup>binükleuslu hücre sayısı, <sup>c</sup>trinükleuslu hücre sayısı, <sup>d</sup>tetranükleuslu hücre sayısı

Preperatlar inceleninceye kadar kuru ve serin bir yerde saklanmıştır.

### 2.2.9 Hemoliz Testi

Toz haline getirilen bitkiden 0.01 gram tartılarak ependorfa konulmuştur. 200 µL EDTA'lı tam kan 10 mL %0.9 NaCl'de seyreltilmiştir. Ependorftaki bitki örneğinin üzerine hazırlanan seyreltik kan çözeltisinden 1 mL eklenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılmak üzere 200 µL kan saf suda seyreltildikten sonra içerisinden 1 mL alınarak bir ependorfa konulmuştur. %0.9 NaCl ile seyreltilen kandan negatif kontrol olarak kullanılmak üzere 1 mL alınarak bir ependorfa konulmuştur. Bitki örneği ve kontroller 2 saat boyunca 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda bitki örnekleri ependorflardan çıkarılmıştır ve ependorflar 1000 g'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda supernatant kısmından 200 µL 96-well plate'e 3'er tekrarlı halde konulmuştur. 545 nm'de mikropilaya okuyucu ile absorbans ölçülmüştür. Daha sonra absorbans değerleri kullanılarak %Hemoliz oranı denklem 2.4 kullanılarak hesaplanmıştır [91]:

$$\% \text{Hemoliz} = [(Abs_{\text{Test}} - Abs_{\text{NK}}) / Abs_{\text{PK}}] \times 100 \quad (2.4)$$

## 2.3 *In vivo* Toksisitenin Belirlenmesi

### 2.3.1 *Drosophila melanogaster*'ın Büyüme Koşulları

Bir beher içerisindeki 500 mL sıcak saf suya 43 gram şeker eklenmiştir. Şeker çözüldükten sonra 9 gram agar yavaş yavaş eklenerek manyetik karıştırıcıda iyice çözünmesi sağlanmıştır. Daha sonra 90 gram irmik eklenerek karıştırılmaya devam edilmiştir. İrmik şişince beher manyetik karıştırıcıdan alınıp oda sıcaklığında 2-3 dk bekletilmiştir. Hafif soğuyan besiyerine 25 gram maya eklenerek iyice karıştırılmıştır. Fungal kontaminasyonu önlemek amacıyla antifungal bir ilaç olan mikostatinden 200 µL eklenmiştir. Son olarak 5 mL propiyonik asit eklenmiştir ve besiyerinden steril cam kültür şişerinin her birine 25 gram eklenmiştir. *D. melanogaster* sinekleri 22°C'de besiyeri bulunan şişeler içerisinde büyütülmüştür [92, 93].

### 2.3.2 *In vivo* Toksikite Testi

*In vivo* toksisite değerlendirmesi, bitki ekstraktlarına maruz bırakılan *D. melanogaster*'ın gelişim süreci gözlemlenerek gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada *D. melanogaster* Oregon R yabancı tip sinek suşları kullanılmıştır. 25 yetişkin erkek ve dişi sineğin aynı şişede  $48 \pm 4$  saat inkübasyonundan sonra 1. dönem larvaları toplanmıştır ve bitki ekstraktı (50 mg/L), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (6.5 µg/mL) ve normal besiyeri bulunan (Negatif kontrol) kültür şişelerine eşit sayıda larva aktarılmıştır. Oluşturulan kültürler larvalar ergin oluncaya kadar 22 °C'de inkübe edilmiştir. Pupa ve yetişkin sinekler sayılarak puparasyon yüzdesi, hayatta kalma yüzdesi ve eklosyon yüzdesi denklem 2.5, 2.6 ve 2.7 kullanılarak hesaplanmıştır [94-98]:

$$\% \text{ Puparasyon} = (\text{Pupa sayısı} / \text{Larva sayısı}) \times 100 \quad (2.5)$$

$$\% \text{ Hayatta kalma} = (\text{Yetişkin sinek sayısı} / \text{Larva sayısı}) \times 100 \quad (2.6)$$

$$\% \text{ Eklosyon} = (\text{Yetişkin sinek sayısı} / \text{Pupa sayısı}) \times 100 \quad (2.7)$$

### 3. BULGULAR

#### 3.1 Fitokimyasal Analiz Sonuçları

##### 3.1.1 HPLC Sonuçları

*Gundelia dersim* bitkisinin etanol ekstraktının fenolik bileşik içeriği HPLC ile analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular Tablo 3.1’de verilmiştir.

**Tablo 3.1:** *Gundelia dersim* bitkisinde HPLC analizinde gözlemlenen fenolik bileşikler.

Fenolik Bileşikler	Miktar (mg/100 g)
Kafeik asit	73.13 ± 1.05
Vanilik asit	7.10 ± 0.59
Rutin hidrat	6.79 ± 0.09
Kuersetin	2.31 ± 0.06
<i>p</i> -kumarik asit	2.23 ± 0.85
Gallik asit	0.52 ± 0.30
Ferulik asit	0.41 ± 0.01

#### 3.2 Antioksidan Aktivite Sonuçları

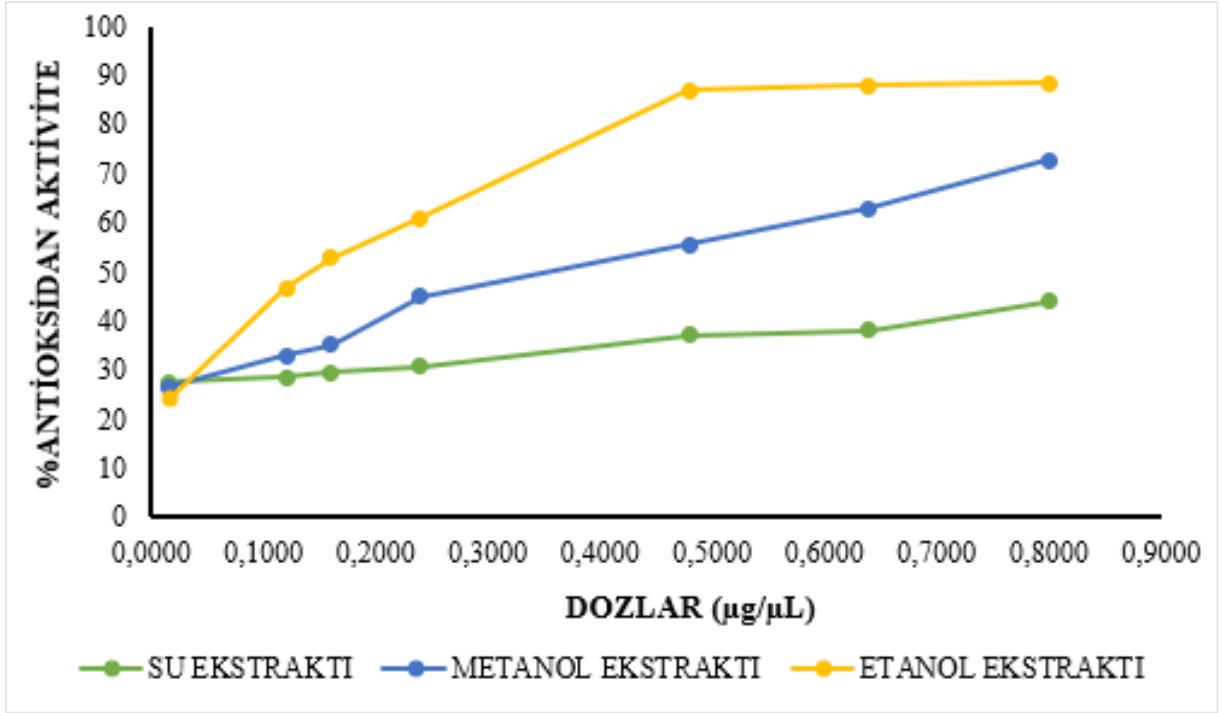
*Gundelia dersim* bitkisinin farklı ekstraktlarının artan konsantrasyona bağlı olarak % antioksidan aktivitesi ve IC<sub>50</sub> değerleri DPPH ve ABTS testleri kullanılarak belirlenmiştir. Bu testlere ek olarak FRAP testi ile ekstraktların antioksidan aktivitesi trolox eşdeğerlikleri hesaplanarak belirlenmiştir.

##### 3.2.1 DPPH Sonuçları

*Gundelia dersim* bitkisinin farklı ekstraktlarıyla yapılan DPPH testi sonucunda hesaplanan IC<sub>50</sub> değerleri Tablo 3.2’de ve % antioksidan aktivitenin artan konsantrasyona bağlı değişimi Şekil 3.1’de verilmiştir.

**Tablo 3.2:** *Gundelia dersim* ekstraktlarının DPPH sonuçları.

Örnekler	IC <sub>50</sub> (µg/µL)
Su ekstraktı	1.73 ± 0.25
Metanol ekstraktı	0.83 ± 0.005
Etanol ekstraktı	0.32 ± 0.002
Gallik asit	0.005 ± 0.00



**Şekil 3.1:** *Gundelia densim* ekstraktlarının % DPPH radikal giderme aktivitesinin dozlara göre değişimi.

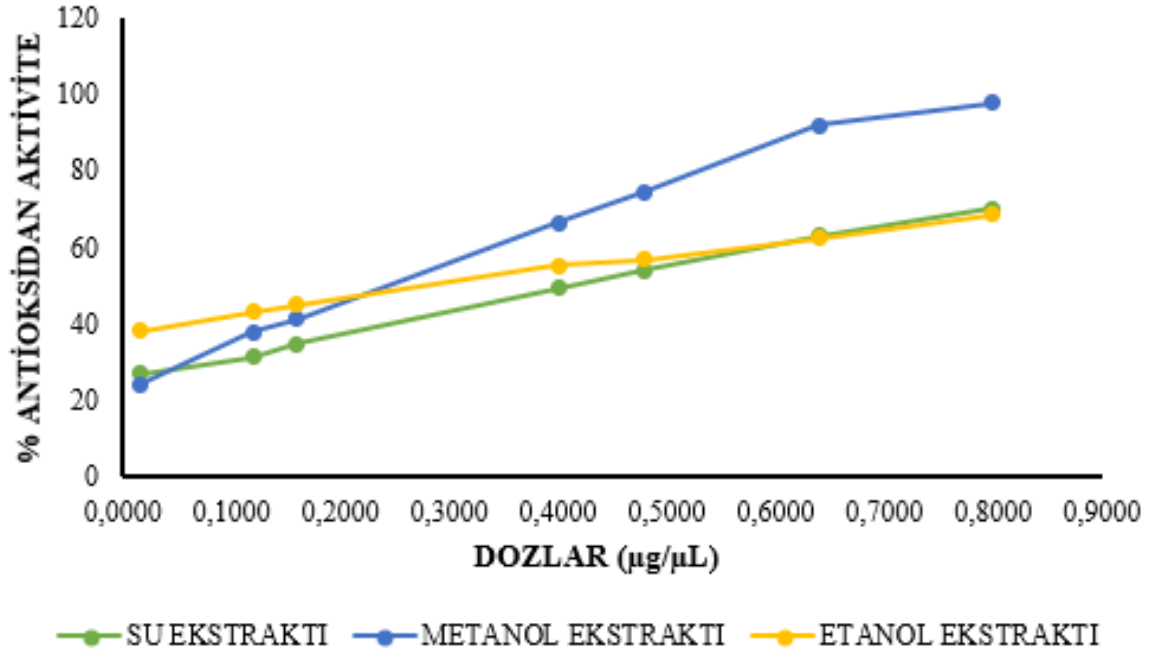
### 3.2.2 ABTS Sonuçları

*Gundelia densim* bitkisinin farklı ekstraktlarıyla yapılan ABTS testi sonucunda hesaplanan  $IC_{50}$  değerleri Tablo 3.3'te ve artan konsantrasyona bağlı olarak değişen % antioksidan değerleri Şekil 3.2'de verilmiştir.

**Tablo 3.3:** *Gundelia densim* ekstraktlarının ABTS sonuçları.

Örnekler	$IC_{50}$ (µg/µL)
Su ekstraktı	$1.18 \pm 0.13$
Metanol ekstraktı	$0.59 \pm 0.01$
Etanol ekstraktı	$1.35 \pm 0.05$
Gallik asit	$0.001 \pm 0.00$





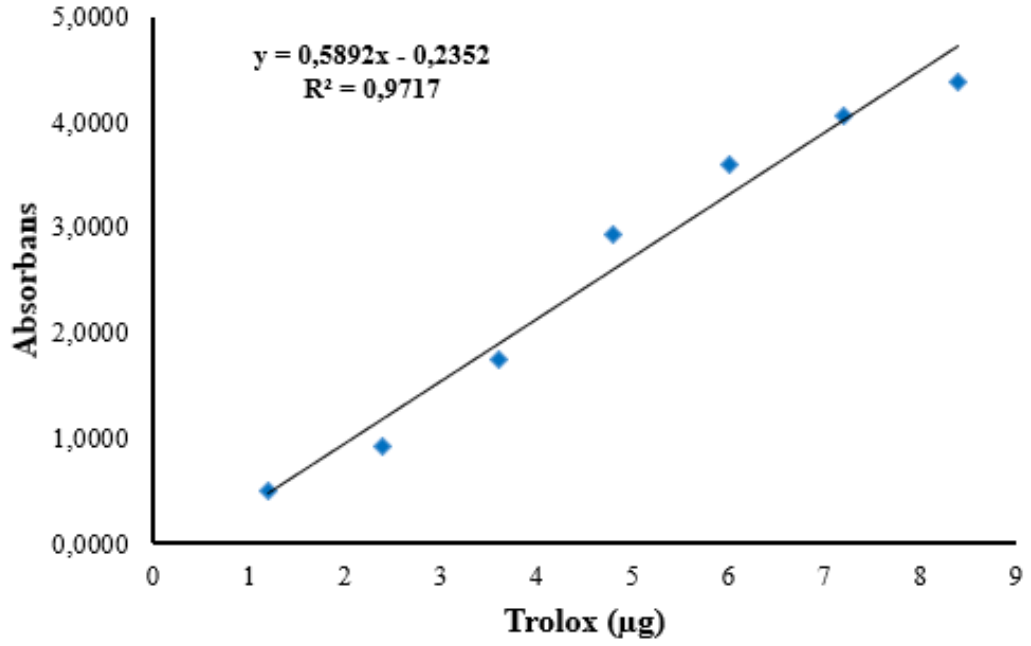
Şekil 3.2: *Gundelia dersim* ekstraktlarının % ABTS<sup>+</sup> giderme aktivitesinin dozlara göre değişimi.

### 3.2.3 FRAP Sonuçları

*Gundelia dersim* bitkisinin farklı ekstraktlarıyla yapılan FRAP testi sonucunda elde edilen sonuçlar Tablo 3.4'te verilmiştir. Hesaplamalarda kullanılan standart eğri grafiği ve bu grafikten elde edilen denklem ise Şekil 3.3'te gösterilmiştir.

Tablo 3.4: *Gundelia dersim* ekstraktlarının FRAP sonuçları.

Örnekler	FRAP (µg/g Trolox)
Su ekstraktı	23.29 ± 3.32
Metanol ekstraktı	66.53 ± 5.68
Etanol ekstraktı	29.51 ± 2.01
Trolox	1.25 ± 0.01



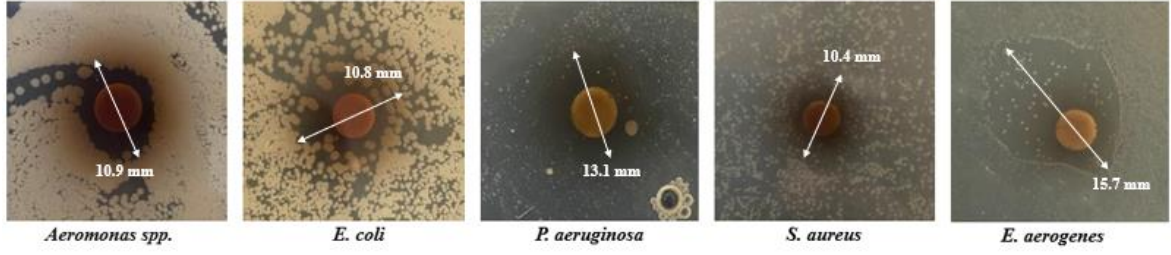
Şekil 3.3: Absorbanslara bağlı olarak çizilen trolox standart eğrisi ve denklemini.

### 3.3 Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

*Gundelia dersim* bitkisinin etanol ekstraktının gram (+) *Staphylacoccus aureus* ve gram (-) *Aeromonas spp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes* bakteri suşlarına karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu Tablo 3.5 ve Şekil 3.4'te gösterilmiştir.

Tablo 3.5: *G. dersim* ekstraktlarının antibakteriyel aktivite sonuçları.

Bakteri Suşları	İnhibisyon Zonları (mm)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	15.7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13.1
<i>Aeromonas sp.</i>	10.9
<i>Escherichia coli</i>	10.8
<i>Staphylacoccus aureus</i>	10.4



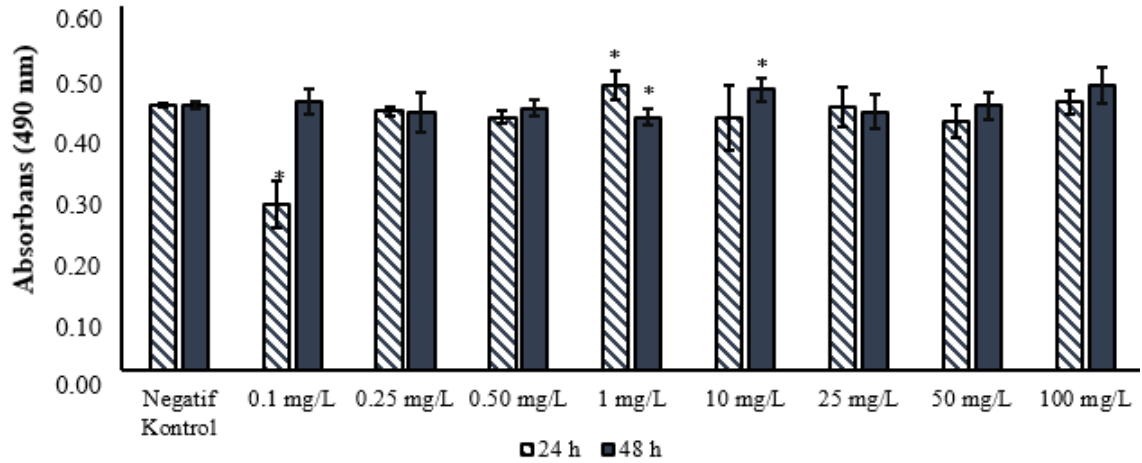
**Şekil 3.4:** *G. dersim* ekstraktının farklı bakteri suşları üzerinde gösterdiği antibakteriyel aktivite.

### 3.4 Sitotoksosite Sonuçları

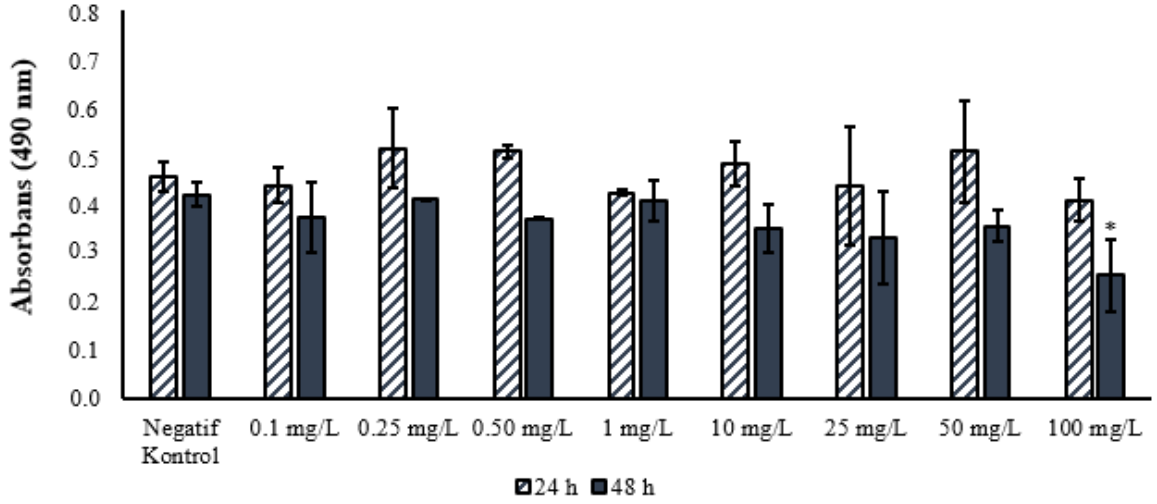
*Gundelia dersim* bitkisinin hazırlanan su, metanol ve etanol ekstraktlarının farklı konsantrasyonları ile inkübe edilen insan lenfosit hücrelerinin 24 ve 48 saat inkübasyon sürelerinin sonunda yapılan MTS testinin sonuçları 490 nm’de absorbans ölçümü alınarak belirlenmiştir.

#### 3.4.1 MTS Testi

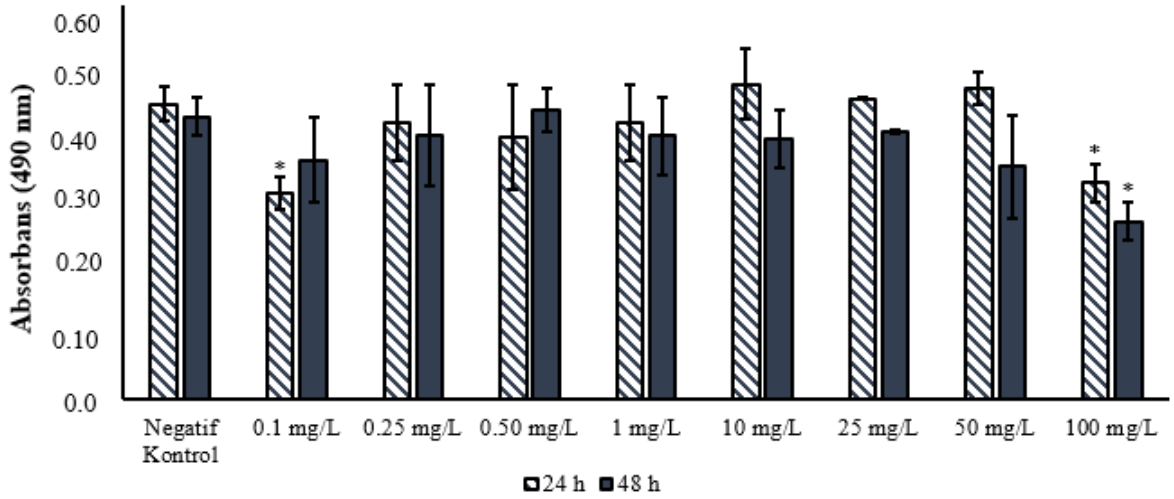
*Gundelia dersim* bitkisinin su, metanol, etanol ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının insan lenfosit hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri MTS testi kullanılarak belirlenmiştir. 24 ve 48 saat MTS sonuçları Şekil 3.5, Şekil 3.6 ve Şekil 3.7’de verilmiştir.



**Şekil 3.5:** *Gundelia dersim* su ekstraktlarının 24 ve 48 saatlik MTS sonuçları (\*, negatif kontrole kıyasla anlamlılığı gösterir (p<0.05)).



**Şekil 3.6:** *Gundelia dersim* metanol ekstraktlarının 24 ve 48 saatlik MTS sonuçları (\*, negatif kontrole kıyasla anlamlılığı gösterir ( $p<0.05$ )).



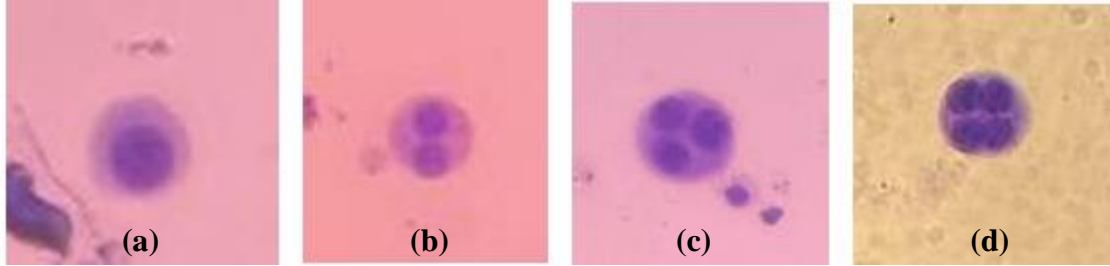
**Şekil 3.7:** *Gundelia dersim* etanol ekstraktlarının 24 ve 48 saatlik MTS sonuçları (\*, negatif kontrole kıyasla anlamlılığı gösterir ( $p<0.05$ )).

### 3.5 Genotoksisite Sonuçları

*Gundelia dersim* bitkisinin su, metanol ve etanol ekstraktlarının 50 mg/L dozunun *in vitro* insan periferik lenfosit hücreleri üzerindeki genotoksik ve antijenotoksik etkisi mikronükleus testi kullanılarak belirlenmiştir.

### 3.5.1 Mikronükleus Testi

*Gundelia darsim* bitkisinin su, metanol ve etanol ekstraktlarının (50 mg/L) göstermiş olduğu genotoksik ve antigenotoksik etkiler Tablo 3.6’da ve mikroskopta görüntülenen hücreler Şekil 3.8’de gösterilmiştir.



Şekil 3.8: Mikronükleus testi sonucunda gözlenen hücre örnekleri; (a) mononükleat hücre, (b) binükleat hücre, (c) trinükleat hücre ve (d) tetranükleat hücre.

Tablo 3.6: Mikronükleus sonuçları.

Ekstraktlar	% Mikronükleus	NDI
Su ekstraktı	4.71±0.09 <sup>b</sup>	1.23±0.01
Su ekstraktı + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	17.49±0.79 <sup>a,b</sup>	1.35±0.01
Metanol ekstraktı	3.53±0.39 <sup>b</sup>	1.29±0.04
Metanol ekstraktı + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	21.06±1.16 <sup>a</sup>	1.17±0.02
Etanol ekstraktı	3.41±0.24 <sup>b</sup>	1.28±0.08
Etanol ekstraktı + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	15.71±0.82 <sup>a,b</sup>	1.23±0.02
Negatif Kontrol	3.94±0.80 <sup>b</sup>	1.29±0.04
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (6.5 µg/mL)	26.49±0.10 <sup>a</sup>	1.36±0.03

<sup>a</sup> Negatif kontrole kıyasla istatistiksel anlamlılığı (p< 0.05) gösterir.

<sup>b</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye kıyasla istatistiksel anlamlılığı (p<0.05) gösterir.

### 3.6 Hemouyumluluk Testi Sonuçları

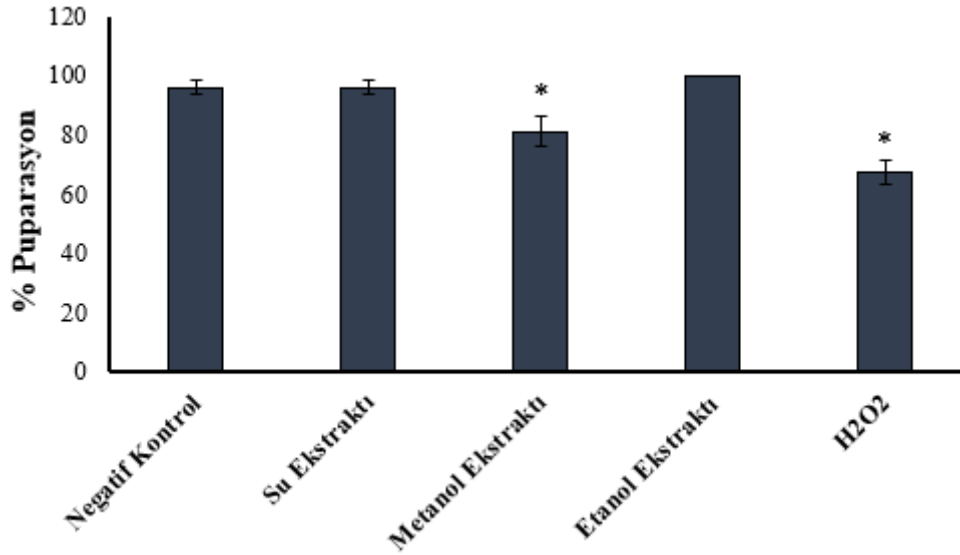
*Gundelia darsim* bitkisi kullanılarak yapılan hemoliz testi sonucunda % hemoliz değeri Tablo 3.7’de verilmiştir.

Tablo 3.7: *Gundelia darsim* bitkisinin %Hemoliz oranı.

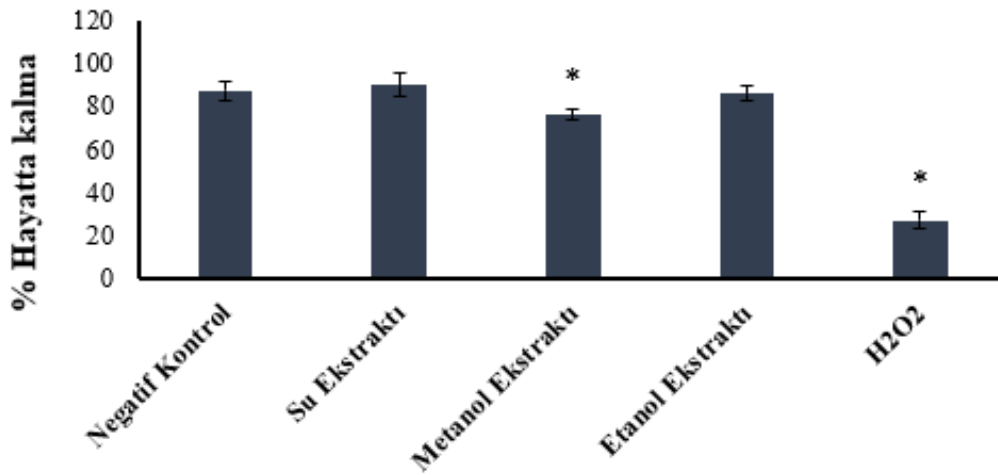
Örnek	%Hemoliz
<i>Gundelia darsim</i>	15.82

### 3.7 *In vivo* Toksikite Sonuçları

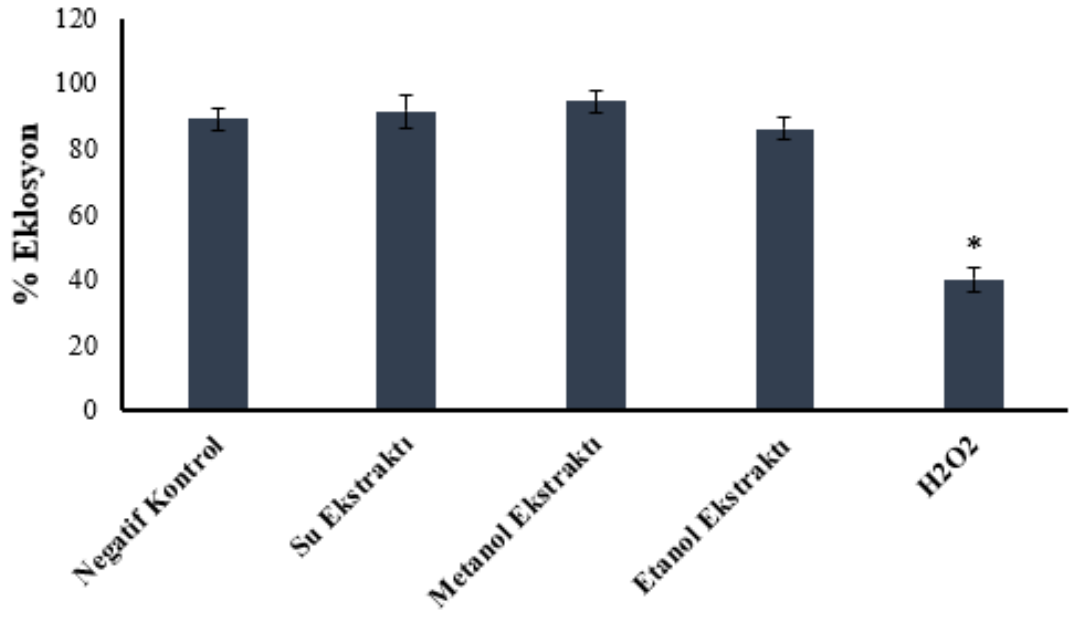
*G. dersim* bitkisinin su, metanol ve etanol ekstraktlarının (50 mg/L) *Drosophila melanogaster* zerindeki toksisitesi puparasyon, hayatta kalma ve eklosyon yüzdeleri hesaplanarak belirlenmiştir. Sonuçlar Şekil 3.9, 3.10 ve 3.11’de verilmiştir.



**Şekil 3.9:** *G. dersim*’in su, metanol ve etanol ekstraktları ile muamele edilmiş *Drosophila melanogaster* sineklerinin %puparasyon sonuçları (\*, negatif kontrole göre istatistiksel anlamlılığı gösterir ( $p < 0.05$ )).



**Şekil 3.10:** *G. dersim*’in su, metanol ve etanol ekstraktları ile muamele edilmiş *Drosophila melanogaster* sineklerinin hayatta kalma yüzdeleri (\*, negatif kontrole göre istatistiksel anlamlılığı gösterir ( $p < 0.05$ )).



**Şekil 9.11:** *G. dersim*'in su, metanol ve etanol ekstraktları ile muamele edilmiş *Drosophila melanogaster* sineklerinin % eklosyon sonuçları (\*, negatif kontrole göre istatistiksel anlamlılığı gösterir ( $p < 0.05$ )).

## 4. SONUÇ ve TARTIŞMA

### 4.1 Fitokimyasal Analiz Sonuçları

Fenolik bileşikler oksidatif hasara karşı koruyucu etki gösterdiklerinden dolayı gıdaların fenolik içeriklerinin belirlenmesi gerekmektedir [74]. Halk arasında çeşitli amaçlarla tüketilen *Gundelia dersim* bitkisinin [28] fenolik içeriği bu çalışmada HPLC analizi ile araştırılmıştır. Yapılan HPLC analizi sonucunda *Gundelia dersim* etanol ekstraktında 7 fenolik bileşik tespit edilmiştir (Tablo 3.1). En yüksek miktarda kafeik asit ( $73.13 \pm 1.05$  mg/100 g) olduğu bulunmuştur. Bunu sırasıyla vanilik asit ( $7.10 \pm 0.59$  mg/100 g), rutin hidrat ( $6.79 \pm 0.09$  mg/100 g), kuersetin ( $2.31 \pm 0.06$  mg/100 g), *p*-kumarik asit ( $2.23 \pm 0.85$  mg/100 g), gallik asit ( $0.52 \pm 0.30$  mg/100 g) ve ferulik asit ( $0.41 \pm 0.01$  mg/100 g) takip etmektedir. Bu çalışmada elde edilen veriler literatürdeki önceki bulgularla uyum sağlamaktadır [26, 27]. *Gundelia dersim* bitkisinin farklı yöntemlerle (Homojenizatör destekli ekstraksiyon, maserasyon, soxhlet, ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon ve infüzyon) hazırlanan ekstraktlarıyla yapılan bir çalışmada, hidroksibenzoik asitler ve türevleri, hidroksisinamik asitler ve türevleri, flavonoidler ve diğer bileşikler olarak kategorize edilen toplam 68 farklı bileşik tespit edilmiştir ve infüzyon yöntemi ile hazırlanan ekstraktın en yüksek fenolik içeriğe (48.01 mg GAE/g kuru ekstrakt) sahip olduğu bildirilmiştir [26]. Dalar ve arkadaşları yaptıkları çalışmada *Gundelia rosea* bitkisinin tohum ekstraktlarının HPLC analizi sonucunda ana bileşenin bir kafeik asit türevi olan 4-kafeoilkinik asit olduğunu tespit etmişlerdir [27, 99]. Haghi ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada *Gundelia tournefortii* bitkisinde dört farklı kafeik asit türevi tespit etmişlerdir [100]. Farklı bir çalışmada yapılan analiz sonucunda *G. dersim* bitkisinde en fazla bulunan fenolik bileşiklerin klorojenik asit, kuinik asit ve siranosit olduğu bildirilmiştir [74]. Literatürde diğer Asteraceae bitkilerinin fitokimyasal analizleri ile ilgili çalışmalar da bulunmaktadır. Bu çalışmaların birinde Berto ve arkadaşları *Erigeron floribundus* bitkisinin kök ve toprak üstü kısımlarının infüzyon ekstraktlarının fitokimyasal içeriğini HPLC ile belirlemişlerdir. Bu çalışma sonucunda, bitkinin ana bileşenin kafeoil esterleri olduğu bulunmuştur. Bunun yanı sıra bitkide kuersetin türevleri, kuinik asit, salisidik asit ve diğer birkaç metabolit de tespit edilmiştir [101]. Michalska ve arkadaşları *Lactuca plumieri* L. (Asteraceae) bitkisinin fenolik bileşik içeriğini HPLC ile belirlemişlerdir. Bu çalışma sonucunda araştırmacılar, bitkinin kök ve toprak üstü kısmının hidroalkalik ekstraktlarında tespit edilen ana bileşiğin kafeik asit türevleri olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca kumarin ve kuersetin türevlerinin de tespit edilen bileşikler arasında olduğu bu çalışma ile gösterilmiştir



[102]. Venditti ve arkadaşları endemik bir tür olan *Schizogyne sericea* (Asteraceae) bitkisinin HPLC ile fenolik içeriğini belirlemişlerdir. Bu çalışmada HPLC sonucunda bitkide 5 fenolik asit tespit edilmiştir. Tespit edilen fenolik asitlerin 3,5-dikafeoilkuinik asit, 1,3-dikafeoilkuinik asit, 3-kafeoilkuinik asit, 4-kafeoilkuinik asit ve kafeik asit olduğu bildirilmiştir [103].

*Gundelia darsim* bitkisinde tespit edilen kafeik asit, çeşitli bitki ürünlerinde bulunan önemli bir fenolik bileşiktir. Antibakteriyel, antiinflamatuvar, antikanser, antidiyabetik ve antioksidan etkilere sahip olduğundan dolayı insan hayatı için oldukça önemlidir [104-106]. Vanilik asit, aroma maddesi olarak kullanılan bir dihidroksibenzoik asit türevidir. Antioksidan, antimitojenik, antikanser, antiinflamatuvar ve nörokoruyucu aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir [107]. Erdem ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, vanilik asitin, mitomisin C ile indüklenen genomik hasara karşı sağlıklı insan lenfositlerini düşük konsantrasyonlarda (1 µg/mL) koruduğunu ancak daha yüksek konsantrasyonlarda (2 µg/mL) genotoksik bir hasar oluşturduğunu belirlemişlerdir [108]. *G. darsim*'de bulunan diğer bir fenolik bileşik olan rutin hidrat, güçlü antioksidan, antiinflamatuvar ve antiapoptotik özelliklerin yanı sıra doku birikimlerini ve oksidatif hasarı azaltmak amacıyla metalleri şelatlayabilir [109]. Zihinsel ve fiziksel performansı iyileştirebilen ve enfeksiyon riskini azaltabilen kuersetin antikanserojen, antiinflamatuvar, antiviral ve antioksidan aktivitelerin yanı sıra lipid peroksidasyonunu, trombosit agregasyonunu ve kılcak geçirgenliği inhibe edebilen, hastalık direnci ve sağlık açısından potansiyel birçok yarar sağlayan fenolik bir bileşiktir [110]. Kumarik asitlerin en bol bulunan formu olan *p*-kumarik asit, antioksidan ve antimikrobiyal özellikler göstererek yaraların iyileşme sürecine katkıda bulunur. Ayrıca *p*-kumarik asidin kanser hücrelerinin çoğalmasını engellediği ve antikanser özellik gösterdiği literatürde bildirilmiştir [111]. *G. darsim*'de tespit edilen gallik asit oldukça önemli benzoik asitlerdendir. Bu fenolik bileşik özellikle antioksidan aktiviteye sahip olduğu için büyük bir önem taşımaktadır. Ayrıca antikanser, antiülserojenik, antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve antifungal aktivite göstermektedir [112]. Ferulik asit ise antiinflamatuvar, antihipoglisemik, antioksidan ve antihipertansif etkilere sahip bir fenolik bileşiktir [113].

## 4.2 Antioksidan Aktivite Sonuçları

İnsan diyetinin oksidatif strese karşı korunmada önemli bir rolü bulunmaktadır çünkü birçok önemli antioksidan insan vücudu tarafından sentezlenemez ve bu nedenle antioksidan moleküllerin beslenme yoluyla alınması gerekir [114]. Bu doğrultuda bu çalışmada insanlar

tarafından geleneksel olarak tüketilen *Gundelia dersim* bitkisinin su, metanol ve etanol ekstraktlarının radikal süpürme kapasitesi DPPH ve ABTS yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Her iki radikal için ayrı ayrı konsantrasyona bağlı eğri oluşturulmuş ve bu eğri denklemi kullanılarak IC<sub>50</sub> değerleri hesaplanmıştır. Antioksidan aktivite IC<sub>50</sub> değerleri ile de karşılaştırmalı olarak verilmiştir. IC<sub>50</sub> değeri, başlangıçtaki DPPH veya ABTS çözeltisinin %50'sinin bitki ekstraktları tarafından süpürülmesi için gerekli olan bitki ekstraktının konsantrasyonunu ifade etmektedir. IC<sub>50</sub> değerinin düşük olması antioksidan aktivitenin yüksek olduğunu göstermektedir [85]. Bu çalışmada pozitif kontrol olarak gallik asit kullanılmıştır. DPPH testinden elde edilen verilerde artan bitki ekstraktı konsantrasyonuna bağlı olarak % antioksidan aktivitenin arttığı görülmektedir (Şekil 3.1). En yüksek DPPH inhibisyonu 0.8 µg/µL konsantrasyonunda etanol ekstraktında %88.44 olarak bulunmuştur. DPPH radikali için IC<sub>50</sub> değerleri su, metanol ve etanol ekstraktları için sırasıyla 1.73±0.25, 0.83±0.005 ve 0.32±0.002 µg/µL olarak hesaplanmıştır. Kontrol olarak kullanılan gallik asitin IC<sub>50</sub> değeri ise 0.005±0.00 µg/µL'dir (Tablo 3.2). Elde edilen bu sonuçlara göre DPPH radikal giderme aktivitesi testi için en yüksek aktivite gösteren ekstraktın etanol olduğu bulunmuştur. Bitki ekstraktlarının radikal süpürme aktivitesi ABTS testi kullanılarak da araştırılmıştır. Bu testten elde edilen verilere göre en yüksek antioksidan aktiviteyi metanol ekstraktı göstermiş ve bunu sırasıyla su ve etanol ekstraktları takip etmiştir. ABTS radikali için hesaplanan IC<sub>50</sub> değerleri su, metanol ve etanol için sırasıyla 1.18±0.13, 0.59±0.01 ve 1.35±0.05 µg/µL olarak hesaplanmıştır. Gallik asitin IC<sub>50</sub> değeri ise 0.001±0.00 µg/µL bulunmuştur (Tablo 3.3). DPPH testinde olduğu gibi ABTS testinde de % antioksidan aktivite tüm ekstraktlarda konsantrasyona bağlı olarak artış göstermiştir (Şekil 3.2).

Demir (III)'in indirgenme kapasitesi yoluyla da antioksidan aktivite tayini (FRAP) yapılmıştır. Sonuçlar oluşturulan trolox eğri denklemi (Şekil 3.3) kullanılarak, trolox eşdeğerliği (µg/g) olarak ifade edilmiştir. Elde edilen değerler 23.29-66.53 µg/g trolox arasındadır. En yüksek demir indirgeme kabiliyeti metanol ekstraktında (66.53±5.68 µg/g trolox) bulunurken bunu sırasıyla etanol (29.51±2.01 µg/g trolox) ve su (23.29±3.32 µg/g trolox) ekstraktı takip etmektedir (Tablo 3.4). Bu çalışmada özetle, DPPH ve ABTS testleri ile belirlenen en düşük IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla etanol ve metanol ekstraktları için hesaplanmıştır. En yüksek FRAP aktivitesini ise metanol ekstraktı göstermiştir. Elde edilen verilere göre *G. dersim* metanol ve etanol ekstraktlarının su ekstraktına göre daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği söylenebilir. Benzer şekilde Dalar ve arkadaşları *Gundelia*

*rosea* bitkisinin antioksidan aktivitesini belirlemek için yaptıkları bir çalışmada etanol bazlı ekstraktların su bazlı ekstraktlardan daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir [27]. *Gundelia dersim* bitkisinin farklı yöntemler kullanılarak (Homojenizatör destekli ekstraksiyon, maserasyon, soxhlet, ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon ve infüzyon) hazırlanan ekstraktlarıyla yapılan bir çalışmada, infüzyon yöntemi kullanılarak hazırlanan ekstraktın en yüksek radikal temizleme ve indirgeme kapasitesine (DPPH, ABTS, CUPRAC ve FRAP testleri için sırasıyla; 91.27, 138.87, 182.28 ve 128.65 mg trolox eşdeğeri/g ekstrakt) sahip olduğu bildirilmiştir [26]. Ertaş ve arkadaşlarının yaptığı diğer benzer bir çalışmada *G. dersim* etanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesi ABTS, DPPH ve CUPRAC testleriyle araştırılmıştır. Bu çalışma sonucunda IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 293.81±5.12, 537.88±4.29 ve 100.00±2.09 µg/mL olarak bulunmuştur [74]. Literatürde bulunan bu çalışmalar, bulduğumuz sonuçlarla örtüşmektedir. Çoruh ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada *Gundelia tournefortii* L. metanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesini DPPH testini kullanarak araştırmışlardır. Bitkinin toprak üstü kısımları ve tohum ekstraktlarının DPPH radikali süpürme IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 0.442 ve 0.73 mg/mL olarak bulunmuştur. Araştırmacılar bu bitkinin % antioksidan aktivitesini de konsantrasyona bağlı olarak göstermiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar *G. dersim* metanol ekstraktıyla paralellik göstermektedir [75]. Şekeroğlu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada *G. tournefortii* tohum ekstraktının (%80 etanol) antioksidan aktivitesini DPPH testi ile araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonuçları ile *G. dersim* etanol ekstraktlarının sonuçları karşılaştırıldığında *G. dersim* etanol ekstraktının, daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmektedir [115]. Benzer başka bir çalışmada *G. tournefortii* yaprak su ekstraktının antioksidan aktivitesi DPPH testi ile araştırılmıştır. Bu çalışmada pozitif kontrol olarak BHT (bütillenmiş hidroksil toluen) kullanılmıştır. Ayrıca bitki ekstraktının nanopartiküllerle bir kombinasyonunun da antioksidan aktivitesi incelenmiş ve karşılaştırmalı olarak verilmiştir. DPPH testi ile hesaplanan IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 330, 330 ve 194 µg/mL olarak bulunmuştur. Ayrıca artan konsantrasyona bağlı olarak *G. tournefortii* ekstraktlarının DPPH radikal süpürme aktivitesinde de artış görülmüştür [78]. Ceylan ve arkadaşları yaptıkları çalışmada *G. tournefortii* L. yaprak metanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesini FRAP, CUPRAC ve DPPH testlerini kullanarak araştırmışlardır. Sırasıyla 1.03±0.01 µmol Fe/g, 2.83±0.46 mmol trolox eşdeğeri/g ve 4.02 mg/mL değerleri bulunmuştur [116]. Bu çalışmada elde edilen veriler, *G. dersim* metanol ekstraktının DPPH ve FRAP sonuçlarıyla karşılaştırıldığında *G. dersim*'in daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Bir diğer çalışmada *G. tournefortii* bitkisinin kök ve sap

kısımlarının su ve etanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesi DPPH testi ile araştırılmıştır. Bu çalışmada hesaplanan IC<sub>50</sub> değerleri kök kısmının ekstraktları için sırasıyla 1.60±0.06 ve 1.43±0.06 mg/mL ve sap kısmı için sırasıyla 1.63±0.06 ve 1.55±0.05 mg/mL olarak hesaplanmıştır [117]. Bu çalışmanın sonuçları ile *G. dersim* sonuçları karşılaştırıldığında *G. dersim* etanol ekstraktlarının daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği görülmektedir.

Yapılan çalışmalarda bitkilerdeki antioksidan aktivitenin fenolik maddelerden kaynaklandığı bildirilmektedir [85]. *Gundelia dersim* bitkisinin gösterdiği antioksidan aktivite, içeriğinde bulunan fenolik bileşiklere (Tablo 3.1) atfedilebilir.

### 4.3 Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Mikroorganizmalar, çeşitli hastalıklara sebep olmakla birlikte gıda, ilaç ve kozmetik ürünlerin bozulmasına da neden olmaktadır. Ayrıca mevcut antibiyotiklere karşı gelişen bakteri direnci son yıllarda son derece artmıştır. Bu durum yeni antibakteriyel ajanlara ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Ayrıca, sentetik antibakteriyel ajanların toksisitesi ve kanserojenliği ile ilgili endişeler, doğal kaynaklara yönelimi artırmıştır [118]. *G. dersim* bitkisinde tespit edilen fenolik bileşiklerin antibakteriyel aktivite gösterdikleri bilinmektedir [106, 111, 112]. Bu çalışmada *G. dersim* bitki ekstraktının 5 farklı bakteri suşuna (*Staphylococcus aureus*, *Aeromonas spp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*) karşı gösterdiği antibakteriyel aktivite disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Antibakteriyel aktivite, diskin çapı da dahil olmak üzere inhibisyon bölgesi milimetre cinsinden ölçülerek değerlendirilmiştir. *G. dersim* ekstraktı tüm bakteri suşlarına karşı inhibisyon zonu oluşturmuştur. En büyük zonlar *E. aerogenes* ve *P. aeruginosa* suşlarına karşı sırasıyla 15.7 ve 13.1 mm olarak ölçülmüştür. *Aeromonas spp.*, *E. coli* ve *S. aureus* suşlarına karşı oluşan zonlar birbirine yakın ve sırasıyla 10.9, 10.8 ve 10.4 mm olarak bulunmuştur (Tablo 3.5 ve Şekil 3.4). *G. dersim*'in göstermiş olduğu antibakteriyel aktivite içeriğinde bulunan kafeik asit, *p*-kumarik asit ve gallik asit bileşiklerinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 3.1) [106, 111, 112]. Bu, *Gundelia dersim* bitkisi için yapılan ilk antibakteriyel aktivite çalışmasıdır. Diğer *Gundelia* türleri ile karşılaştırıldığında bu sonuçlar şaşırtıcı değildir. Yapılan iki farklı çalışmada *Gundelia tournefortii* L. ekstraktının 6 farklı bakteri suşuna karşı güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği bulunmuştur [78, 119]. Bu çalışmaların birinde araştırmacı Zhaleh ve arkadaşları *G. tournefortii* bitkisinin yaprak kısmı su ekstraktlarının, *S. typhimurium*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. pneumoniae* ve *B. subtilis* bakteri suşlarına karşı gösterdiği

antibakteriyel aktivitesini disk difüzyon yöntemiyle araştırmışlardır. Bu çalışma ile bitki ekstraktının kullanılan bakteri suşlarına karşı yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği bulunmuştur. Bu testin sonuçlarına göre bitki ekstraktının (64 mg/mL) oluşturduğu inhibisyon zon çapları sırasıyla 26.4±1.34, 26.4±0.54, 29.4±1.34, 28.2±0.44, 30.4±1.34 ve 30.6±1.14 mm olarak ölçülmüştür [78]. Diğer çalışmada ise Han ve arkadaşları *G. tournefortii* yaprak su ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesini (*S. typhimurium*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. pneumoniae* ve *B. subtilis* bakteri suşlarına karşı) disk difüzyon metodu ile belirlemişlerdir. İnhibisyon zonları sırasıyla 25.8±1.09, 25.4±1.34, 27.2±1.3, 26.2±0.83, 28±1 ve 28.2±0.44 mm olarak ölçülmüştür. Bu çalışma da *G. tournefortii* yaprak su ekstraktlarının yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiğini desteklemektedir [119]. Palabıyık ve arkadaşları *G. tournefortii* sakız özünün su, metanol ve aseton ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesini disk difüzyon metodu ile belirlemişlerdir. Bu çalışmada araştırmacılar *E.coli*, *L. monocytogenes*, *S. Enteritis*, *S. aureus*, *V. parahaemolyticus* bakteri suşlarını kullanmışlardır. Araştırmacılar, sulu ekstrelerin antibakteriyel bir etki göstermediğini ancak %80 metanol ve %80 aseton ekstraktlarının bu çalışmada kullanılan tüm bakteri suşlarına karşı antibakteriyel olduğunu bildirmiştir [120]. Awen ve arkadaşları Asteraceae familyasından olan *Erigeron mucronatus* bitkisinin esansiyel yağının *S. aureus*, *E.coli* ve *P.aeruginosa* bakteri suşlarına karşı antibakteriyel etkisini dik difüzyon metodu ile araştırmışlardır. İnhibisyon zonlarını sırasıyla 18, 27 ve 21 mm olarak ölçmüşlerdir [121].

#### 4.4 Sitotoksikite Sonuçları

Bitki ekstraktları birçok alanda kullanıldığı için sitotoksitelerinin araştırılması, güvenli bir şekilde kullanılacakları sitotoksik etki göstermeyen konsantrasyon aralıklarının belirlenmesi açısından son derece önemlidir [56]. Bu amaçla *G. dersim* bitkisinin su, metanol ve etanol ekstraktlarının konsantrasyona ve süreye bağlı olarak sağlıklı insan lenfosit hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi MTS testi ile belirlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinin sonunda *G. dersim* su ekstraktları 0.25-100 mg/L konsantrasyonları arasında sitotoksik bir etki göstermemiştir. Sadece en düşük konsantrasyon (0.1 mg/L) için 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda negatif kontrole kıyasla anlamlı bir absorpsiyon düşüklüğü görülmüştür ( $p<0.05$ ) (Şekil 3.5). *G. dersim* metanol ekstraktları ile 24 saatlik inkübasyon sonrası alınan absorpsiyon ölçümlerinde tüm dozlar (0.1-100 mg/L) negatif kontrole yakın bulunmuştur. Ancak 48 saatlik inkübasyon sonrasında yapılan MTS testi bulgularında sadece maksimum dozun (100 mg/L) istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur ( $p<0.05$ ) (Şekil 3.6). *G. dersim* etanol

ekstraktları 24 saat inkübasyon süresi sonunda 0.1 ve 100 mg/L konsantrasyonları ve 48 saatlik inkübasyondan sonra 100 mg/L konsantrasyon için absorbans değerleri negatif kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş göstermiştir ( $p < 0.05$ ) (Şekil 3.7). Ancak 24 ve 48 saatlik inkübasyonlarda diğer konsantrasyonlarda negatif kontrole kıyasla hücre canlılığında önemli bir düşüş görülmemiştir (Şekil 3.7). Bu çalışma ile *G. dersim*'in sitotoksik aktivitesi ilk kez araştırılmıştır. Ancak literatürde diğer *Gundelia* türlerine ait farklı hücre hatları ve sitotoksisite testlerinin kullanıldığı sitotoksisite çalışmaları bulunmaktadır. Bu çalışmaların birinde araştırmacılar *Gundelia tournefortii* bitkisinin yaprak kısımlarından elde ettikleri su ekstraktının HUVEC hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisini MTT testini kullanarak belirlemişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda 48 saat boyunca bitki ekstraktı ile muamele edilen hücrelerde önemli bir sitotoksik etki gözlenmemiştir [78]. Kadan ve arkadaşları yaptıkları çalışmada *G. tournefortii* hekzan ve metanol ekstraktlarının (0-1 mg/mL) L6-GLUT4-myc hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisini MTT ve LDH testlerini kullanarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri bulgulara göre bitki ekstraktlarının 250 µg/mL dozuna kadar sitotoksik bir etki göstermediğini bildirmişlerdir [77]. Jamshidzadeh ve arkadaşları ise *G. tournefortii* L. hidroalkalik ekstraktlarının sıçan hepatositlerinde CCl<sub>4</sub>'ün indüklediği sitotoksisite üzerindeki etkisini tripan mavisi testi ile araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda 0.2-0.8 mg/mL konsantrasyonları arasında bitki ekstraktının hücreleri koruduğu ancak 1.0 mg/mL konsantrasyonundan sonra koruyucu etki göstermediği bildirilmiştir [76]. Literatürde diğer Asteraceae türlerine ait sitotoksisite çalışmaları da bulunmaktadır. Bu çalışmalardan birinde araştırmacılar *Chresta martii* bitkisinin siklohekzan, etilasetat ve etanol ekstraktlarının insan kanser hücre hatları (HL-60, NCI-H292 ve MCF-7) üzerindeki sitotoksik etkisini MTT testi ile araştırmışlardır. MTT sonuçları etilasetat ve etanol ekstraktlarının tüm hücre hatlarını inhibe ettiğini ancak siklohekzan ekstraktının sadece HL-60 ve MCF-7 hücre hatlarında bir inhibisyona sebep olduğunu göstermiştir [122].

Bu çalışmada *G. dersim* ekstraktlarının sağlıklı insan lenfositleri üzerindeki sitotoksik etkisi konsantrasyona, inkübasyon süresine ve çözücü tipine bağlı olarak değişim göstermiştir. Bunun yanı sıra hiçbir *G. dersim* ekstraktı 0.25-50 mg/L konsantrasyonları arasında önemli bir sitotoksisite göstermemiştir. Bulunan sonuçlar literatürdeki benzer çalışmalarla uyum sağlamaktadır.

#### 4.5 Genotoksisite Sonuçları

Bitkilerin geleneksel olarak yıllardır kullanılması onların güvenli oldukları düşüncesinin oluşmasına neden olmuştur ve geleneksel olarak kullanılan bitkilerin çoğunun kapsamlı bir toksikolojik araştırması yapılmamıştır. Bitkilerin yararlı biyolojik aktivitelerinin yanı sıra eğer genotoksik bir bileşeni varsa, DNA'ya müdahale ederek genetik bir hasara sebep olabilirler. Bu anlamda bitkilerin güvenilirliğinin değerlendirilmesi önemlidir [9]. Bu çalışmada halk arasında geleneksel olarak kullanılan *G. dersim* bitkisinin su, metanol ve etanol ekstraktlarının (50 mg/L) sağlıklı insan lenfosit hücrelerindeki genotoksik etkisi ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (6.5 µg/mL) kaynaklı oluşan genetik hasara karşı gösterdiği antigenotoksik etkisi mikronükleus testi ile araştırılmıştır. Sonuçlara bakıldığında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye maruz bırakılan hücrelerde mikronükleus oranı %26.49±0.10 iken negatif kontrolde bu oran %3.94±0.80'dir ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye maruz kalan hücrelerde görülen bu artış negatif kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. *G. dersim*'in su, metanol ve etanol ekstraktlarıyla muamele edilen lenfosit hücrelerinde mikronükleus oluşumunda negatif kontrole kıyasla önemli bir değişiklik meydana gelmemiştir (p<0.05) (Tablo 3.6). *G. dersim* ekstraktları ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye birlikte maruz bırakılan lenfosit hücrelerinde mikronükleus oluşumu (su, metanol ve etanol ekstraktları için sırasıyla mikronükleus oluşu; %17.49±0.79, 21.06±1.16 ve 15.71±0.82), sadece H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye maruz bırakılan hücelere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş göstermiştir (p<0.05) (Tablo 3.6). Özetle *G. dersim* ekstraktları, lenfosit hücreleri üzerinde herhangi bir genotoksik etki göstermezken H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin sebep olduğu genotoksik hasarı da azaltmıştır. Literatürde *G. dersim*'in genotoksisitesi ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak diğer Asteracea türleri ile ilgili yapılan genotoksisite çalışmaları vardır. Örneğin Zan ve arkadaşları *Cynara scolymus* L. (Asteracea) (Enginar)'nin yaprak su ekstraktlarının fare kan ve kemik iliği hücreleri üzerindeki genotoksik ve mutajenik etkilerini COMET ve mikronükleus testleri ile araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda araştırmacılar, lenfosit hücrelerinde bu ekstraktın mikronükleuslu hücreleri artırmadığını ancak fare kemik iliği hücrelerinde kontrol grubuna göre en yüksek doz olan 2000 mg/kg konsantrasyonunun COMET'i önemli derecede artırdığını bulmuşlardır [123]. Güz ve arkadaşları *Xanthium spinosum* (Asteracea) bitkisinin sulu ekstresinin 0.02, 0.1, 0.2 g/L dozlarının insan lökosit ve balık eritrosit hücreleri üzerindeki genotoksik etkisini COMET ve mikronükleus testleri ile araştırmışlardır. Elde ettikleri verilere göre test edilen bu üç konsantrasyonda hücrelerde önemli bir değişiklik meydana gelmediğinden dolayı *X. spinosum* sulu ekstresinin (0.02, 0.1, 0.2 g/L) genotoksik olmadığını bildirmişlerdir [124]. Başka bir çalışmada *Erigeron mucronatus* bitkisinin esansiyel yağının insan periferik lökosit hücreleri üzerindeki

genotoksik etkisi konsantrasyona ve zamana bağılı olarak kromozom aberasyon testi kullanılarak araştırılmıştır. Bu araştırma sonucunda düşük konsantrasyonda ve kısa süreli maruziyette önemli bir genotoksisite oluşmazken yüksek konsantrasyonlarda ve uzun süreli maruziyette genotoksik hasar olduğu gözlemlenmiştir [121]. Santos ve arkadaşları *Vernonanthura polyanthes* yaprak su ekstraktlarının genotoksik etkisini SMART testi ile araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda araştırmacılar bitki ekstraktının *Drosophila melanogaster* somatik hücreleri üzerinde toksik bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir [125]. Eroğlu ve arkadaşları *Helichrysum* (Asteraceae)'nın altı türünün (*H. pallasi*, *H. chionophilum*, *H. plicatum* subsp. *polyphyllum*, *H. plicatum* subsp. *pseudoplicatum*, *H. peshmenianum*, *H. goulandrionum*) metanol ekstraktlarının insan lenfosit hücreleri üzerindeki genotoksik etkilerini mikronükleus testini kullanarak araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda bu bitkilerin aşırı tüketilmesinin olumsuz sonuçlara sebep olabileceğini bildirmişlerdir [126].

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar literatürde bulunan diğer Asteraceae türlerinin genotoksisite sonuçlarıyla uyumludur.

#### **4.6 Hemouyumluluk Sonuçları**

Hemolitik aktivite, hücresel düzeyde moleküller ve biyolojik maddeler arasındaki etkileşim hakkında bilgi verir. Çeşitli mekanizmaların hemolize sebep olduğu bilinmektedir. Hemolitik aktivite, hücre membranında por oluşumunun bir sonucu olabilir ve dolayısıyla membran geçirgenliğinin değişmesine sebep olabilir ya da sodyum-potasyum ve kalsiyum magnezyum ATPaz aktivitelerinin değişmesinden kaynaklanabilir. Herhangi bir maddenin hemolitik aktivitesi, sağlıklı hücrelere yönelik genel sitotoksisitenin bir göstergesi olarak kabul edilir. Bu yüzden çeşitli biyoaktivitelere sahip bir ilacın, farmakolojik uygulamalarda kullanılıp kullanılmayacağını belirlemek amacıyla hemolitik test yapılması önemlidir [127, 128]. Literatürde bir maddenin sebep olduğu hemoliz oranı, %5'ten küçük ise bu maddenin oldukça hemouyumlu, %10'a kadar hemouyumlu ve %20'den fazla ise hemouyumlu olmayan olarak sınıflandırılması gerektiği belirtilmiştir [129]. Bu çalışmada *G. dersim* bitkisinin hemouyumluluğu hemoliz testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar *G. dersim* bitkisinin (%15.82), %20'den daha düşük hemolize sebep olduğunu ve dolayısıyla hemouyumlu olduğunu göstermektedir (Tablo 3.7). Literatürde *Gundelia* türlerine ait herhangi bir hemouyumluluk çalışmasına rastlanmamaktadır. Ancak bazı Asteraceae türleriyle ilgili hemouyumluluk çalışmaları bulunmaktadır. Andra ve arkadaşları



*Galinsoga parviflora* Cav (Asteraceae) ve *Cissus quadrangularis* (Vitaceae) özleriyle polivinil alkolü (PVA) birleştirilerek yara pansuman uygulamalarında kullanılmak amacıyla bir mat oluşturmuşlar ve hemolitik aktivitesini % hemoliz oranını hesaplayarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar, elde ettiği verilerde *G. parviflora* bitkisiyle birleştirilen PVA ürününün oldukça hemouyumlu olduğunu bildirmişlerdir [130]. Izumi ve arkadaşları *Tanacetum parthenium* (Asteraceae) bitkisinin hemouyumluluğunu hemoliz testi ile araştırmışlardır ve bu çalışma sonucunda bitkinin hemolize sebep olmadığını bildirmişlerdir [131]. Benzer bir çalışmada araştırmacılar, *Bidens tripartita* (Asteraceae) bitkisinin sulu ve alkolik ekstraktlarının biyoyoumluluğunu fareler üzerinde *in vivo* olarak araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler bitki ekstraktlarının biyoyoumlu olduğunu göstermiştir [132]. Başka bir çalışmada Panchariya ve arkadaşları *Balanites aegyptiaca* (L.) bitkisinden elde edilen biyosüfaktanların biyoyoumluluğunu hemoliz testi ile araştırmışlardır ve % hemoliz değeri 5'ten küçük olduğu için yüksek oranda hemouyumlu olduğunu bildirmişlerdir [133].

#### **4.7 In vivo Toksikite Sonuçları**

*Drosophila melanogaster* sinekleri kullanılarak yapılan bu çalışmada *G. dersim* ekstraktlarının puparasyon yüzdesi, hayatta kalma oranı (%) ve eklosyon yüzdesi larva, pupa ve kapalı ergin sinekler sayılarak hesaplanmış ve sonuçlar Şekil 3.9, 3.10 ve 3.11'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, puparasyon, hayatta kalma ve eklosyon oranlarında (%) önemli bir düşüşe sebep olmuştur. *G. dersim*'in su ve etanol ekstraktları negatif kontrole göre puparasyon ve hayatta kalma oranlarında (%) anlamlı bir değişikliğe sebep olmamışken metanol ekstraktları larva aşamasına zarar vermiştir. Ancak hiçbir ekstrakt eklosyon yüzdesini değiştirmemiştir. Bu sonuçlar göz önüne alındığında *G. dersim* ekstraktlarının *Drosophila*'nın eklosyon sürecini etkilemediği söylenebilir. Bu çalışmada kullanılan farklı ekstraktlar besiyerinin kokusunu ya da tadını etkilemiş olabilirler. Bu nedenle larvaların beslenme süreci, metanol ekstraktları ile olumsuz etkilenirken su ve etanol ekstraktlarında olumsuz bir etki görülmemiştir. Diğer böcek türleri gibi meyve sineği *Drosophila*'nın da toksik maddeleri tespit etmede koku ve tat alma duyularını hassas bir şekilde kullanabildiği bilinmektedir [134]. Diğer yandan pupadan yetişkin bir holometabolik böceğin ortaya çıkması olarak bilinen eklosyon davranışı, başladıktan sonra kesintiye uğramaz ve motivasyonel durumlar ile bireyler arasındaki etkileşimlere bağlı değilken beyindeki merkezi saat ile protorasik bezdeki periferik saatin etkileşimine bağlıdır [135]. Toksik bir madde, eklosyon sürecinde görev yapan hormonları olumsuz etkileyerek

eklosyon sürecinde değişiklik olmasına sebep olabilir [96]. *G. dersi*m ekstraktlarının *in vivo* toksisite değerlendirmesi sonucunda hiçbir ekstraktın eklosyon sürecini etkilemediği ve dolayısıyla *Drosophila* üzerinde toksik bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Farklı bitki ekstraktlarıyla yapılan toksisite çalışmaları literatürde bulunmaktadır. Örneğin *Senecio brasiliensis* (Asteraceae)'in hidroalkolik ekstraktlarının, 1 mg/mL'nin altındaki konsantrasyonlarda hayatta kalma ve eklosyon oranlarını etkilemediği ancak bu konsantrasyonun üzerinde toksik olduğu bildirilmiştir [96]. Alkhamis ve arkadaşları yaptıkları çalışmada *Hibiscus sabdariffa*'nın (10-50 mg/mL) su ekstraktlarının, negatif kontrole kıyasla *D. melanogaster*'da mortalite ve eklosyon oranlarında önemli değişikliklere neden olmadığını bildirmişlerdir [136]. Benzer bir diğer çalışmada ise araştırmacılar *Boerhavia diffusa* (Nyctaginaceae) su ekstraktlarının, *Drosophila*'da toluen kaynaklı oluşan gelişimsel ve üreme toksisitesini önlediğini bulmuşlardır [137].

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada Türkiye'nin Tunceli ilinde endemik olan ve halk arasında çeşitli amaçlarla tüketilen *Gundelia dersim* bitkisinin fitokimyasal içeriği ve güvenilirliği araştırılmıştır. *G. dersim*'in fitokimyasal içeriği HPLC analizi ile belirlenmiştir ve içeriğinde en yüksek miktarda bulunan bileşiğin kafeik asit ( $73.13 \pm 1.05$  mg/100 g) olduğu tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite DPPH, ABTS ve FRAP testleri ile araştırılmıştır. Metanol ve etanol ekstraktlarının su ekstraktından daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Yapılan disk difüzyon testinde *G. dersim*'in bu çalışmada kullanılan beş farklı bakteri suşuna karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Hiçbir *G. dersim* ekstraktı 0.25-50 mg/L konsantrasyonları arasında sitotoksik bir etki göstermemiştir ve normal hücre büyümesini desteklemiştir. *G. dersim* ekstraktlarıyla (50 mg/L) muamele edilen sağlıklı insan lenfosit hücrelerinde önemli bir mikronükleus oluşumu gözlenmemiştir ve ayrıca H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (6.5 µg/mL) kaynaklı oluşan mikronükleusları, ekstraktların azalttığı görülmüştür. Bunlara ek olarak *G. dersim* bitkisi yapılan hemoliz testi sonucunda hemouyumlu bulunmuştur. Ayrıca, *G. dersim*'in su, metanol ve etanol ekstraktları, *Drosophila melanogaster*'in *in vivo* eklosyon sürecini etkilememiştir. Bu çalışma ile çalışılan konsantrasyonlarda *G. dersim*'in su, metanol ve etanol ekstraktlarının toksik olmadığı ilk kez bildirilmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda *G. dersim*'de bulunan ikincil metabolitler ileri biyokimyasal teknikler kullanılarak daha detaylı araştırılabilirler ve farklı model organizmalar üzerinde yapılacak çalışmalarla daha detaylı bir toksikolojik değerlendirme literatüre sunulabilir.

## 6. KAYNAKLAR

- [1] B. S. Ayhan, E. Yalçın, K. Çavuşoğlu, and A. Acar, “Antidiabetic Potential and Multi-Biological Activities of *Trachystemon orientalis* Extracts,” *J. Food Meas. Charact.*, vol. 13, no. 4, pp. 2887–2893, 2019, doi: 10.1007/s11694-019-00209-1.
- [2] K. S. Abdel lateif, I. A. Maghrabi, and H. A. Eldeab, “The Plant Natural Products: Their Antioxidants, Free Radical Scavengers, DNA Protection and Antimicrobial Activities,” *J. Bioprocess. Biotech.*, vol. 06, no. 09, 2016, doi: 10.4172/2155-9821.1000293.
- [3] M. N. Rosa *et al.*, “Bioprospecting of Natural Compounds from Brazilian Cerrado Biome Plants in Human Cervical Cancer Cell Lines,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, no. 7, pp. 1–13, 2021, doi: 10.3390/ijms22073383.
- [4] R. M. Darwish and T. A. Aburjai, “Effect of Ethnomedicinal Plants Used in Folklore Medicine in Jordan as Antibiotic Resistant İnhibitors on *Escherichia coli*,” *BMC Complement. Altern. Med.*, vol. 10, pp. 1–8, 2010, doi: 10.1186/1472-6882-10-9.
- [5] V. Jaramillo-García *et al.*, “Chemical Characterization and Cytotoxic, Genotoxic, and Mutagenic Properties of *Baccharis trinervis* (Lam, Persoon) from Colombia and Brazil,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 213, no. October 2017, pp. 210–220, 2018, doi: 10.1016/j.jep.2017.10.027.
- [6] K. Mansi, Y. Tabaza, and T. Aburjai, “The Iron Chelating Activity of *Gundelia Tournefortii* in Iron Overloaded Experimental Rats,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 263, no. June, p. 113114, 2020, doi: 10.1016/j.jep.2020.113114.
- [7] H. A. Deveci, G. Nur, M. A. Kirpik, A. Harmankaya, and Y. Yıldız, “Fenolik Bileşik İçeren Bitkisel Antioksidanlar,” *Kafkas Üniversitesi Fen Bil. Enst. Derg.*, vol. 9, no. 1, pp. 26–32, 2016.
- [8] E. Faydaoğlu and S. Sürücüoğlu, “Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri ve Kullanım Olanakları”, *EÜFBED - Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, pp. 233–265, 2013.
- [9] Z. Amani, H. Gandomi, A. Akhondzadeh Basti, A. Derakhshandeh, and N. Noori, “Cytotoxicity, Genotoxicity, and Mutagenicity Potential of Ethanolic Extract of *Heracleum persicum* Desf. ex Fischer,” *J. Food Saf.*, vol. 39, no. 3, pp. 1–9, 2019, doi: 10.1111/jfs.12640.
- [10] M. Kılıç, K. Yıldız, and F. M. Kılıç, “Traditional Uses of Medicinal Plants in Artuklu,

- Turkey,” *Hum. Ecol.*, vol. 48, no. 5, pp. 619–632, 2020, doi: 10.1007/s10745-020-00180-2.
- [11] L. Verschaeve and J. Van Staden, “Mutagenic and Antimutagenic Properties of Extracts From South African Traditional Medicinal Plants,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 119, no. 3, pp. 575–587, 2008, doi: 10.1016/j.jep.2008.06.007.
- [12] M. Pukalskienė, G. Slapšytė, V. Dedonytė, J. R. Lazutka, J. Mierauskienė, and P. R. Venskutonis, “Genotoxicity and Antioxidant Activity of Five *Agrimonia* and *Filipendula* Species Plant Extracts Evaluated by Comet and Micronucleus Assays in Human Lymphocytes and Ames *Salmonella*/Microsome Test,” *Food Chem. Toxicol.*, vol. 113, no. 2018, pp. 303–313, 2018, doi: 10.1016/j.fct.2017.12.031.
- [13] A. Shafaei, K. Esmaili, E. Farsi, A. F. A. Aisha, A. M. S. Abul Majid, and Z. Ismail, “Genotoxicity, Acute and Subchronic Toxicity Studies of Nano Liposomes of *Orthosiphon Stamineus* Ethanolic Extract in Sprague Dawley Rats,” *BMC Complement. Altern. Med.*, vol. 15, no. 1, pp. 1–14, 2015, doi: 10.1186/s12906-015-0885-z.
- [14] H. B. Nalan Yıldırım Doğan, Mustafa Korkmaz, “Tıbbi ve Aromatik Bitki Olarak Kullanılan *Tanacetum* sp. (Pire otu) Türlerinin Genetik Benzerliğinin Moleküler Yöntemler ile Belirlenmesi,” *Manas J. Agric. Vet. Life Sci.*, vol. 9, no. 1, pp. 22–29, 2019.
- [15] F. Ç. Çelikezen, Ş. Hayta, Ö. Özdemir, and H. Türkez, “Cytotoxic and Antioxidant Properties of Essential Oil of *Centaurea behen* L. *in vitro*,” *Cytotechnology*, vol. 71, no. 1, pp. 345–350, 2019, doi: 10.1007/s10616-018-0290-9.
- [16] S. YU *et al.*, “The Complete Chloroplast Genome Sequence of the Monotypic and Enigmatic Genus *Cavea* (tribe Gymnarrheneae) and a Comparison with Other Species in Asteraceae,” *J. Genet.*, vol. 101, no. 1, 2022, doi: 10.1007/s12041-022-01360-3.
- [17] E. Kodak, I. Erdogan, B. Bani, A. A. Sahin, and N. M. Pinar, “Leaf Micromorphology of Some *Tanacetum* L. ( Asteraceae ) Taxa in Turkey,” vol. 30, no. 4, pp. 30–41, 2017.
- [18] P. Rivera, J. L. Villaseñor, T. Terrazas, and J. L. Panero, “The Importance of the Mexican Taxa of Asteraceae on the Family Phylogeny,” *J. Syst. Evol.*, vol. 00, no. 00, pp. 1-16, 2020, doi: 10.1111/jse.12681.
- [19] G. Caruso, M. T. Abdelhamid, A. Kalisz, and A. Sekara, “Linking Endophytic Fungi to Medicinal Plants Therapeutic Activity. A Case Study on Asteraceae,” *Agric.*, vol. 10, no. 7, pp. 1–23, 2020, doi: 10.3390/agriculture10070286.

- [20] A. E. de Athayde, C. E. S. de Araujo, L. P. Sandjo, and M. W. Biavatti, "Metabolomic Analysis Among Ten Traditional 'Arnica' (Asteraceae) From Brazil," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 265, no. August 2020, p. 113149, 2021, doi: 10.1016/j.jep.2020.113149.
- [21] E. Attard and A. Cuschieri, "In vitro Immunomodulatory Activity of Various Extracts of Maltese Plants From the Asteraceae Family," *J. Med. Plants Res.*, vol. 3, no. 6, pp. 457–461, 2009.
- [22] A. V. Myagchilov, P. G. Gorovoi, and L. I. Sokolova, "Flavonoids from *Serratula komarovii* Iljin (the Asteraceae Family)," *Russ. J. Bioorganic Chem.*, vol. 47, no. 7, pp. 1418–1423, 2021, doi: 10.1134/s1068162021070128.
- [23] I. Genç and M. Firat, "Karyological Study of the Genus *Gundelia* (Compositae) in Turkey," *Caryologia*, vol. 72, no. 1, pp. 45–53, 2019, doi: 10.13128/cayologia-250.
- [24] M. A. Ateş, M. Firat, and Z. Kaya, "Updated-Extended Molecular Time and Molecular Phylogeny of *Gundelia* Species Native to Turkey," *Plant Syst. Evol.*, vol. 307, no. 4, pp. 1–9, 2021, doi: 10.1007/s00606-021-01771-2.
- [25] M. Firat, "*Gundelia siirtica* (Asteraceae), a New Lactiferous Species from Siirt (South-Eastern Anatolia)," *Phytotaxa*, vol. 394, no. 4, pp. 276–284, 2019, doi: 10.11646/phytotaxa.394.4.5.
- [26] M. de la Luz Cádiz-Gurrea *et al.*, "A Comparative Assessment of Biological Activities of *Gundelia dersim* Miller and *Gundelia Glabra* Vitek, Yüce & Ergin Extracts and Their Chemical Characterization via HPLC-ESI-TOF-MS," *Process Biochem.*, vol. 94, no. March, pp. 143–151, 2020, doi: 10.1016/j.procbio.2020.04.002.
- [27] A. Dalar, G. Zengin, M. Mukemre, A. S. Bengu, and S. İş, "*Gundelia rosea* Seed : Evaluation of Biopharmaceutical Potential and Bioactive Composition," *South African J. Bot.*, vol. 125, pp. 505–510, 2019, doi: 10.1016/j.sajb.2019.08.024.
- [28] U. Cakilcioglu, "An Ethnobotanical Field Study; Traditional Foods Production and Medicinal Utilization of *Gundelia* L . Species in Tunceli ( Turkey )," *Indian J. Tradit. Knowl.*, vol. 19, no. 4, pp. 714–718, 2020.
- [29] U. Mercan, "Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi," *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Vet. Fakültesi Derg.*, vol. 15, no. 1, pp. 91-96–96, 2004.
- [30] T. H. B. De Oliveira, N. B. De Gusmão, L. A. O. Da Silva, and L. C. B. B. Coelho, "Free Radicals and Actinobacteria as a Misexplored Goldmine of Antioxidant Compounds," *An. Acad. Bras. Cienc.*, vol. 93, pp. 1–23, 2021, doi: 10.1590/0001-

3765202120201925.

- [31] I. K. Umar and B. Samir, "Can an ABTS Antioxidant Test be Performed Without a Spectrophotometer?," *Cumhur. Sci. J.*, vol. 40, no. 1, pp. 197–203, 2019, doi: <http://dx.doi.org/10.17776/csj.356185>.
- [32] K. Sezer and M. Keskin, "Serbest Oksijen Radikallerinin Hastalıkların Patogenezisindeki Rolü," *F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.*, vol. 28, no. 1, pp. 49–56, 2014.
- [33] H. Karabulut and M. Ş. Gülay, "Serbest Radikaller," *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilim. Enstitüsü Derg.*, vol. 4, no. 1, pp. 50–59, 2016, doi: [10.17343/sdutfd.38962](https://doi.org/10.17343/sdutfd.38962).
- [34] E. Bursal, E. Güzel, and R. Boğa, "Çiriş Otunun (*Asphodelus aestivus*) Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi," *Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilim. Derg.*, vol. 1, no. 1, pp.17–25,2013,[Online]. Available: <http://dergipark.gov.tr/msufbd/issue/19656/209849>.
- [35] O. Özcan, H. Erdal, G. Çakırca, and Z. Yönden, "Oxidative Stress and Its Impacts on Intracellular Lipids, Proteins and DNA," *J. Clin. Exp. Investig.*, vol. 6, no. 3, pp. 331–336, 2015, doi: [10.5799/ahinjs.01.2015.03.0545](https://doi.org/10.5799/ahinjs.01.2015.03.0545).
- [36] R. Thirugnanasampandan and R. Jayakumar, "Cytotoxic and Anticarcinogenic Activity of the Ent-Kaurene Diterpenoid, Melissoidesin, from *Isodon wightii* (Benth) H. Hara," *Nat. Prod. Res.*, vol. 23, no. 16, pp. 1499–1506, 2009, doi: [10.1080/14786410802632812](https://doi.org/10.1080/14786410802632812).
- [37] G. M. Benhusein, E. Mutch, S. Aburawi, and F. M. Williams, "Genotoxic Effect Induced by Hydrogen Peroxide in Human Hepatoma Cells Using Comet Assay," *Libyan J. Med.*, vol. 5, no. 1, pp. 1–6, 2010, doi: [10.3402/ljm.v5i0.4637](https://doi.org/10.3402/ljm.v5i0.4637).
- [38] J. W. Dong, L. Cai, Y. Xing, J. Yu, and Z. T. Ding, "Re-evaluation of ABTS<sup>•+</sup> Assay for Total Antioxidant Capacity of Natural Products," *Nat. Prod. Commun.*, vol. 10, no. 12, pp. 2169–2172, 2015, doi: [10.1177/1934578x1501001239](https://doi.org/10.1177/1934578x1501001239).
- [39] B. Z. Kurt, I. Gazioğlu, E. Sevgi, and F. Sönmez, "Anticholinesterase, Antioxidant, Antiaflatoxic Activities of Ten Edible Wild Plants from Ordu Area, Turkey," *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 17, no. 3, pp. 1047–1056, 2018, doi: [10.22037/ijpr.2018.2248](https://doi.org/10.22037/ijpr.2018.2248).
- [40] J. Pokorný, "Are Natural Antioxidants Better - and Safer - Than Synthetic Antioxidants?," *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, vol. 109, no. 6, pp. 629–642, 2007, doi: [10.1002/ejlt.200700064](https://doi.org/10.1002/ejlt.200700064).
- [41] E. Büyüktuncel, "Main Spectrophotometric Methods for the Determination of Total

- Phenolic Content and Antioxidant Capacity,” *Marmara Pharm. J.*, vol. 17, no. 2, pp. 93–103, 2013, doi: 10.12991/201317377.
- [42] İ. Yılmaz, “Antioksidan İçeren Bazı Gıdalar ve Oksidatif Stres,” *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, vol. 17 no. 2, 2010.
- [43] M. Kindl, B. Blažeković, F. Bucar, and S. Vladimir-Knežević, “Antioxidant and Anticholinesterase Potential of Six *Thymus* Species,” *Evidence-based Complement. Altern. Med.*, vol. 2015, pp. 1-10, 2015, doi: 10.1155/2015/403950.
- [44] S. A. Seyhan, “DPPH• Antioksidan Analizinin Yeniden Değerlendirilmesi,” vol. 9, no. 2, pp. 125–135, 2019.
- [45] O. T. Okan, H. Varlibaş, M. Öz, and İ. Deniz, “Antioksidan Analiz Yöntemleri ve Doğu Karadeniz Bölgesinde Antioksidan Kaynağı Olarak Kullanılabilecek Odun Dışı Bazı Bitkisel Ürünler,” vol. 13, no. 1, pp. 48–59, 2013.
- [46] K. Ahmouda, B. Benhaoua, S. E. Laouini, and A. Labbi, “Plant Extract FRAP Effect on Cation Vacancies Formation in Greenly Synthesized Wüstite (FeO) Nanoparticles: A New Contribution,” *Sustain. Chem. Pharm.*, vol. 25, no. November 2021, p. 100563, 2022, doi: 10.1016/j.scp.2021.100563.
- [47] K. A. Wojtunik-Kulesza, “Approach to Optimization of FRAP Methodology for Studies Based on Selected Monoterpenes,” *Molecules*, vol. 25, no. 22, pp. 1–11, 2020, doi: 10.3390/molecules25225267.
- [48] K. I. Berker, K. Güçlü, I. Tor, and R. Apak, “Comparative Evaluation of Fe(III) Reducing Power-Based Antioxidant Capacity Assays in the Presence of Phenanthroline, Batho-Phenanthroline, Tripyridyltriazine (FRAP), and Ferricyanide Reagents,” *Talanta*, vol. 72, no. 3, pp. 1157–1165, 2007, doi: 10.1016/j.talanta.2007.01.019.
- [49] J. K. Moon and T. Shibamoto, “Antioxidant Assays for Plant and Food Components,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 57, no. 5, pp. 1655–1666, 2009, doi: 10.1021/jf803537k.
- [50] U. Abbasoglu, “Antimikrobiyal Aktivite Araştırma Yöntemleri,” *FABAD J. Pharm. Sci* 22, pp. 111–118, 1996.
- [51] B. Sümerkan, “Antibiyotik Duyarlılık Testleri ve Standardizasyon,” *Flora İnfeksiyon Hast. ve Klin. Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(1), pp. 24–30, 1996.
- [52] S. Zorofchian Moghadamtousi, H. Abdul Kadir, P. Hassandarvish, H. Tajik, S. Abubakar, and K. Zandi, “A Review on Antibacterial, Antiviral, and Antifungal Activity of Curcumin,” *Biomed Res. Int.*, vol. 2014, 2014, doi: 10.1155/2014/186864.
- [53] N. B. B. Raman Ibrahim, D. Puchooa, J. Govinden-Soulange, and S. Facknath,



- “Chemical Profiling and Biological Activity of *Cassia abbreviata* Oliv.,” *South African J. Bot.*, vol. 146, pp. 325–339, 2022, doi: 10.1016/j.sajb.2021.11.004.
- [54] O. Tokur, and A. Aksoy, “*In Vitro* Sitotoksosite Testleri,” *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, vol. 6, no. 1, pp. 112–118, 2017.
- [55] Karakuş, Emre (2016) “Hücre Kültürü Teknikleri,” pp. 133-178.
- [56] P. Sowa, D. Marcinčáková, M. Mišek, E. Sidor, J. Legáth, and M. Dzugan, “Analysis of Cytotoxicity of Selected Asteraceae Plant Extracts in Real Time, Their Antioxidant Properties and Polyphenolic Profile,” *Molecules*, vol. 25, no. 23, pp. 1–14, 2020, doi: 10.3390/molecules25235517.
- [57] O. Access, “In Vitro Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantages,” in *A Predictable Risk to Our Actual World*, pp. 1–17.
- [58] M. Shokrzadeh and M. Modanloo, “An Overview of the Most Common Methods for Assessing Cell Viability,” *J. Res. Med. Dent. Sci.*, vol. 5, no. 2, p. 33, 2017, doi: 10.5455/jrmds.2017526.
- [59] S. A. Jassam, “Role of CD15 and CD15s in the Cellular Mechanisms of Cancer Cell Metastasis from Lung to the Brain,” no. January, 2016, doi: 10.13140/RG.2.2.22158.20808.
- [60] Z. A. Şekeroğlu and V. Şekeroğlu, “Genetik Toksisite Testleri,” *Türk Bilim Araştırma Vakfı Derg.*, vol. 4, pp. 221–229, 2011.
- [61] S. Demirel and A. G. Zamani, “Mikronükleus Tekniği ve Kullanım Alanları,” *Genel Tıp Derg.*, vol. 12, no. 3, pp. 123–127, 2002, [Online]. Available: <http://geneltip.org/upload/sayi/32/GTD-00230.pdf>.
- [62] C. Börçek Kasurka, “Geno-Sitotoksosite Çalışmalarına Sitom Yaklaşımı,” *Eskişehir Tek. Üniversitesi Bilim ve Teknol. Derg. - Yaşam Bilim. Ve Biyoteknoloji*, vol. 8, no. 2, pp. 261–269, 2019, doi: 10.18036/estubtdc.599209.
- [63] V. Şekeroğlu, “Genotoksik Hasarın Belirlenmesinde Mikronükleus Testi,” *Türk Hij. ve Deney. Biyol. Derg.*, vol. 68, no. 4, pp. 241–252, 2011.
- [64] P. Özyol, E. Özyol, and F. Karel, “Biocompatibility of Intraocular Lenses,” *Türk Oftalmoloji Derg.*, vol. 47, no. 4, pp. 221–225, 2017, doi: 10.4274/tjo.10437.
- [65] L. Ghasemi-Mobarakeh, D. Kolahreez, S. Ramakrishna, and D. Williams, “Key Terminology in Biomaterials and Biocompatibility,” *Curr. Opin. Biomed. Eng.*, vol. 10, pp. 45–50, 2019, doi: 10.1016/j.cobme.2019.02.004.
- [66] K. Harpe, P. Kondiah, Y. Choonara, T. Marimuthu, L. Toit, and V. Pillay, “The Hemocompatibility of Nanoparticles : A Review,” *Cells*, vol. 8, no. 1209, pp. 1–25,

- 2019, [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2073-4409/8/10/1209>.
- [67] Y. H. Türkmen *et al.*, “Hemoliz ve Lipeminin Biyokimyasal Testlere Etkisi ve Lipemik Etkinin Uzaklaştırılmasında Kullanılan Yöntemlerin Karşılaştırılması,” *Gulhane Med. J.*, vol. 49, no. 1, pp. 5–10, 2007.
- [68] M. Nalezinková, “*In vitro* Hemocompatibility Testing of Medical Devices,” *Thromb. Res.*, vol. 195, no. July, pp. 146–150, 2020, doi: 10.1016/j.thromres.2020.07.027.
- [69] H. R. Siddique, S. C. Gupta, A. Dhawan, R. C. Murthy, D. K. Saxena, and D. K. Chowdhuri, “Genotoxicity of Industrial Solid Waste Leachates in *Drosophila melanogaster*,” *Environ. Mol. Mutagen.*, vol. 46, no. 3, pp. 189–197, 2005, doi: 10.1002/em.20149.
- [70] H. S. Al-Maliki, S. Martinez, P. Piszczatowski, and J. W. Bennett, “*Drosophila melanogaster* as a Model for Studying *Aspergillus fumigatus*,” *Mycobiology*, vol. 45, no. 4, pp. 233–239, 2017, doi: 10.5941/MYCO.2017.45.4.233.
- [71] C. Hazır, G. Bora, and H. E. Yurter, “Nörodejeneratif Hastalık Araştırmalarında *Drosophila melanogaster* Modeli,” *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg.*, vol. 46, no. 2, pp. 237–245, 2020, doi: 10.32708/uutfd.732671.
- [72] C. Ong, L. Y. L. Yung, Y. Cai, B. H. Bay, and G. H. Baeg, “*Drosophila melanogaster* as a Model Organism to Study Nanotoxicity,” *Nanotoxicology*, vol. 9, no. 3, pp. 396–403, 2015, doi: 10.3109/17435390.2014.940405.
- [73] E. Vitek, E. Yüce, and C. Ergin, “*Gundelia dersim* and *Gundelia munzuriensis* (Compositae), Two New Species from Turkey,” *Phytotaxa*, vol. 161, no. 2, pp. 130–138, 2014, doi: 10.11646/phytotaxa.161.2.4.
- [74] A. Ertas *et al.*, “Phytochemical Fingerprints and Bioactivities of Ripe Disseminules (Fruit-Seeds) of Seventeen *Gundelia* (Kenger-Kereng Dikeni) Species from Anatolia with Chemometric Approach,” *Chem. Biodivers.*, vol. 18, no. 8, 2021, doi: 10.1002/cbdv.202100207.
- [75] N. Çoruh, A. G. S. Çelep, F. Özgökçe, and M. Işcan, “Antioxidant Capacities of *Gundelia tournefortii* L . Extracts and Inhibition on Glutathione-S-Transferase Activity,” *Food Chem.*, vol. 100, pp. 1249–1253, 2007, doi: 10.1016/j.foodchem.2005.12.008.
- [76] A. Jamshidzadeh, F. Fereidooni, Z. Salehi, and H. Niknahad, “Hepatoprotective Activity of *Gundelia tourenfortii*,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 101, no. 1–3, pp. 233–237, 2005, doi: 10.1016/j.jep.2005.04.013.
- [77] S. Kadan, Y. Sasson, B. Saad, and H. Zaid, “*Gundelia tournefortii* Antidiabetic

- Efficacy: Chemical Composition and GLUT-4 Translocation,” *Evidence-based Complement. Altern. Med.*, vol. 2018, pp. 1–8, 2018, doi: 10.1155/2018/8294320.
- [78] M. Zhaleh *et al.*, “*In vitro* and *in vivo* Evaluation of Cytotoxicity, Antioxidant, Antibacterial, Antifungal, and Cutaneous Wound Healing Properties of Gold Nanoparticles Produced via a Green Chemistry Synthesis Using *Gundelia tournefortii* L. as a Capping and Reducing Agent,” *Appl. Organomet. Chem.*, vol. 33, no. 9, pp. 1–14, 2019, doi: 10.1002/aoc.5015.
- [79] R. A. Moreira Szokalo *et al.*, “Toxicogenetic Evaluation of *Smallanthus sonchifolius* (Yacon) as a Herbal Medicine,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 257, pp. 1-8, 2020, doi: 10.1016/j.jep.2020.112854.
- [80] S. K. Naik, S. Mohanty, A. Padhi, R. Pati, and A. Sonawane, “Evaluation of Antibacterial and Cytotoxic Activity of *Artemisia nilagirica* and *Murraya koenigii* Leaf Extracts Against Mycobacteria and Macrophages,” *BMC Complement. Altern. Med.*, vol. 14, pp. 1–10, 2014, doi: 10.1186/1472-6882-14-87.
- [81] M. C. Sabini *et al.*, “Evaluation of the Cytotoxicity, Genotoxicity and Apoptotic Induction of an Aqueous Extract of *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC,” *Food Chem. Toxicol.*, vol. 60, pp. 463–470, 2013, doi: 10.1016/j.fct.2013.08.005.
- [82] L. V. Jacociunas *et al.*, “Protective Activity of *Cynara scolymus* L. Leaf Extract Against Chemically Induced Complex Genomic Alterations in CHO Cells,” *Phytomedicine*, vol. 20, no. 12, pp. 1131–1134, 2013, doi: 10.1016/j.phymed.2013.06.003.
- [83] E. Dirican, H. Turkez, and B. Toğar, “Modulatory Effects of *Thymbra spicata* L. Different Extracts Against the Mercury Induced Genotoxicity in Human Lymphocytes *in vitro*,” *Cytotechnology*, vol. 64, no. 2, pp. 181–186, 2012, doi: 10.1007/s10616-011-9406-1.
- [84] S. Dogan, M. E. Diken, and M. Dogan, “Antioxidant, Phenolic and Protein Contents of Some Medicinal Plants,” *J. Med. Plants Res.*, vol. 4, no. 23, pp. 2566–2573, 2010, doi: 10.5897/jmpr10.626.
- [85] G. Yıldız, C. Aktürk, M. Özerkan, and Ö. Yılmaz, “*Linum arboreum* L. (Linaceae) Türünün Antioksidan İçeriği ve Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi,” *KSÜ Tarım ve Doğa Derg.*, no. Ek sayı 1, pp. 16–23, 2019, doi: 10.18016/ksutarimdog.vi.530120.
- [86] A. Basile *et al.*, “Antibacterial and Antioxidant Activities in *Sideritis italica* (Miller) Greuter et Burdet Essential Oils,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 107, no. 2, pp. 240–248, 2006, doi: 10.1016/j.jep.2006.03.019.

- [87] B. Yilmaz, S. Doğan, and S. Çelikler Kasimoğullari, “Hemocompatibility, Cytotoxicity, and Genotoxicity of Poly(methylmethacrylate)/Nanohydroxyapatite Nanocomposites Synthesized by Melt Blending Method,” *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.*, vol. 67, no. 6, pp. 351–360, 2018, doi: 10.1080/00914037.2017.1331349.
- [88] B. Yilmaz, E. T. Irmak, Y. Turhan, S. Doğan, M. Doğan, and O. Turhan, “Synthesis, Characterization and Biological Properties of Intercalated Kaolinite Nanoclays: Intercalation and Biocompatibility,” *Adv. Mater. Sci.*, vol. 19, no. 1, pp. 83–99, 2019, doi: 10.2478/adms-2019-0007.
- [89] S. Celikler, O. Vatan, G. Yildiz, and R. Bilaloglu, “Evaluation of anti-oxidative, genotoxic and antigenotoxic potency of *Codium tomentosum* Stackhouse ethanolic extract in human lymphocytes in vitro,” *Food Chem. Toxicol.*, vol. 47, no. 4, pp. 796–801, 2009, doi: 10.1016/j.fct.2009.01.010.
- [90] F. Ari, E. Ulukaya, S. Oran, S. Celikler, S. Ozturk, and M. Z. Ozel, “Promising Anticancer Activity of a Lichen, *Parmelia sulcata* Taylor, against Breast Cancer Cell Lines and Genotoxic Effect on Human Lymphocytes,” *Cytotechnology*, vol. 67, no. 3, pp. 531–543, 2015, doi: 10.1007/s10616-014-9713-4.
- [91] D. Motlagh, J. Allen, R. Hoshi, J. Yang, K. Lui, and G. Ameer, “Hemocompatibility Evaluation of Poly(diols citrate) *in vitro* for Vascular Tissue Engineering,” *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, vol. 82, no. 4, pp. 907–916, 2007, doi: 10.1002/jbm.a.
- [92] H. Chung, T. Sztal, S. Pasricha, M. Sridhar, P. Batterham, and P. J. Daborn, “Characterization of *Drosophila melanogaster* Cytochrome P450 Genes,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 106, no. 14, pp. 5731–5736, 2009, doi: 10.1073/pnas.0812141106.
- [93] E. U. Yakovleva, E. B. Naimark, and A. V. Markov, “Adaptation of *Drosophila melanogaster* to Unfavorable Growth Medium Affects Lifespan and Age-Related Fecundity,” *Biochem.*, vol. 81, no. 12, pp. 1445–1460, 2016, doi: 10.1134/S0006297916120063.
- [94] A. Depetris-Chauvin, D. Galagovsky, C. Chevalier, G. Maniere, and Y. Grosjean, “Olfactory Detection of a Bacterial Short-Chain Fatty Acid Acts as an Orexigenic Signal in *Drosophila melanogaster* Larvae,” *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, pp. 1–14, 2017, doi: 10.1038/s41598-017-14589-1.
- [95] Q. F. Liu *et al.*, “*In vivo* Screening of Traditional Medicinal Plants for Neuroprotective Activity against A $\beta$ 42 Cytotoxicity by Using *Drosophila* Models of

- Alzheimer's Disease," *Biol. Pharm. Bull.*, vol. 38, no. 12, pp. 1891–1901, 2015, doi: 10.1248/bpb.b15-00459.
- [96] G. E. Macedo *et al.*, "Senecio Brasiliensis Impairs Eclosion Rate and Induces Apoptotic Cell Death in Larvae of *Drosophila melanogaster*," *Comp. Biochem. Physiol. Part - C Toxicol. Pharmacol.*, vol. 198, no. May, pp. 45–57, 2017, doi: 10.1016/j.cbpc.2017.05.004.
- [97] M. D. Rand, S. L. Montgomery, L. Prince, and D. Vorobjeikina, "Developmental Toxicity Assays Using the *Drosophila* Model," *Curr. Protoc. Toxicol.*, vol. 59(1), pp. 1–27, 2014, doi: 10.1002/0471140856.tx0112s59.
- [98] B. Riaz *et al.*, "Toxicity, Phytochemical Composition, and Enzyme Inhibitory Activities of Some Indigenous Weed Plant Extracts in Fruit Fly, *Drosophila melanogaster*," *Evidence-based Complement. Altern. Med.*, 2018, doi: 10.1155/2018/2325659.
- [99] G. Haghi, A. Hatami, M. Mehran, and H. Hosseini, "Caffeic Acid Derivatives from *Bupleurum chinense*," *Res. Pharm. Sci.*, vol. 9, no. 5, pp. 323–330, 2014.
- [100] G. Haghi, A. Hatami, and R. Arshi, "Distribution of Caffeic Acid Derivatives in *Gundelia tournefortii* L.," *Food Chem.*, vol. 124, no. 3, pp. 1029–1035, 2011, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.07.069.
- [101] C. Berto, F. Maggi, P. C. B. Nya, A. Pettina, I. Boschiero, and S. Dall'Acqua, "Phenolic Constituents of *Erigeron floribundus* (Asteraceae), a Cameroonian Medicinal Plant," *Nat. Prod. Commun.*, vol. 9, no. 12, pp. 1691–1694, 2014, doi: 10.1177/1934578X1400901207.
- [102] K. Michalska, J. Malarz, and A. Stojakowska, "Chemical Constituents from *Lactuca plumieri* (L.) Gren. & Godr. (Asteraceae)," *Nat. Prod. Res.*, vol. 0, no. 0, pp. 1–5, 2021, doi: 10.1080/14786419.2021.1920583.
- [103] A. Bianco *et al.*, "Bioactive Secondary Metabolites from *Schizogyne sericea* (Asteraceae) Endemic to Canary Islands," *Chem. Biodivers.*, vol. 13, pp. 826–836, 2016, doi: 10.1002/cbdv.201500222.
- [104] A. V. Bounegru and C. Apetrei, "Voltamperometric Sensors and Biosensors Based on Carbon Nanomaterials Used for Detecting Caffeic Acid — A Review," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 21, no. 23, 2020.
- [105] A. Tuba, "Determining the Phenolic Components by Using HPLC and Biological Activity of *Centaurea triumfetti*," *Plant Biosyst. - An Int. J. Deal. with all Asp. Plant Biol.*, vol. 155, no. 1, pp. 159–164, 2021, doi: 10.1080/11263504.2020.1722275.

- [106] F. Khan, N. I. Bamunuarachchi, N. Tabassum, and Y. M. Kim, “Caffeic Acid and Its Derivatives: Antimicrobial Drugs toward Microbial Pathogens,” *J. Agric. Food Chem.*, 2021, doi: 10.1021/acs.jafc.0c07579.
- [107] S. Kiokias, C. Proestos, and V. Oreopoulou, “Phenolic Acids of Plant Origin-A Review on Their Antioxidant Activity *in vitro* (O/W Emulsion Systems) along with Their *in vivo* Health Biochemical Properties,” *Foods*, vol. 9, no. 4, 2020, doi: 10.3390/foods9040534.
- [108] M. G. Erdem, N. Cinkilic, O. Vatan, D. Yilmaz, D. Bagdas, and R. Bilaloglu, “Genotoxic and Anti-genotoxic Effects of Vanillic Acid against Mitomycin C-induced Genomic Damage in Human Lymphocytes *in vitro*,” *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, vol. 13, no. 10, pp. 4993–4998, 2012, doi: 10.7314/APJCP.2012.13.10.4993.
- [109] D. G. Mostafa, E. F. Khaleel, R. M. Badi, G. A. Abdel-Aleem, and H. M. Abdeen, “Rutin Hydrate Inhibits Apoptosis in the Brains of Cadmium Chloride-Treated Rats via Preserving the Mitochondrial Integrity and Inhibiting Endoplasmic Reticulum Stress,” *Neurol. Res.*, vol. 41, no. 7, pp. 594–608, 2019, doi: 10.1080/01616412.2019.1596206.
- [110] Y. Li *et al.*, “Quercetin, Inflammation and Immunity,” *Nutrients*, vol. 8, no. 3, pp. 1–14, 2016, doi: 10.3390/nu8030167.
- [111] Y. C. Boo, “*p*-coumaric Acid as an Active Ingredient in Cosmetics: A review Focusing on Its Antimelanogenic Effects,” *Antioxidants*, vol. 8, no. 8, 2019, doi: 10.3390/antiox8080275.
- [112] F. H. A. Fernandes and H. R. N. Salgado, “Gallic Acid: Review of the Methods of Determination and Quantification,” *Crit. Rev. Anal. Chem.*, vol. 46, no. 3, pp. 257–265, 2016, doi: 10.1080/10408347.2015.1095064.
- [113] F. Hua, L. Shi, and P. Zhou, “Phenols and Terpenoids: Natural Products as Inhibitors of NLRP3 Inflammasome in Cardiovascular Diseases,” *Inflammopharmacology*, vol. 30, 2022, doi: 10.1007/s10787-021-00918-4.
- [114] G. Yildiz, Ö. Vatan, S. Çelikler, and Ş. Dere, “Determination of the Phenolic Compounds and Antioxidative Capacity in Red Algae *Gracilaria bursa-pastoris*,” *Int. J. Food Prop.*, vol. 14, no. 3, pp. 496–502, 2011, doi: 10.1080/10942910903256949.
- [115] N. Sekeroglu, F. S. Senol, I. Erdogan, A. R. Gulpinar, M. Kartal, and B. Sener, “*In vitro* Prospective Effects of Various Traditional Herbal Coffees Consumed in Anatolia Linked to Neurodegeneration,” *Food Res. Int.*, vol. 45, no. 1, pp. 197–203, 2012, doi: 10.1016/j.foodres.2011.10.008.

- [116] S. Ceylan, S. Cetin, Y. Camadan, O. Saral, O. Ozsen, and A. Tutus, “Antibacterial and Antioxidant Activities of Traditional Medicinal Plants from the Erzurum Region of Turkey,” *Irish journal of medical science*, vol. 188, no. 4, pp. 1303–1309, 2019, doi: 10.1007/s11845-019-01993-x
- [117] M. Keskin, G. Kaya, and Ş. Keskin, “*Gundelia Tournefortii* L . ( Kenger ) : Determination of *in vitro* Antidiabetic Activities,” vol. 23, 2021, doi: 10.23751/pn.v23i4.11079.
- [118] N. Chlif, M. Diouri, N. El Messaoudi, A. Ed-Dra, F. R. Filali, and A. Bentayeb, “Phytochemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Extracts from Different Parts of *Brocchia cinerea* (Vis.),” *Biointerface Res. Appl. Chem.*, vol. 12, no. 4, pp. 4432–4447, 2022, doi: 10.33263/BRIAC124.44324447.
- [119] S. Han and A. Zangeneh, “Application of Silver Nanoparticles Containing *Gundelia tournefortii* L . Leaf Aqueous Extract in the Treatment of Microbial Diseases and Cutaneous Wound Healing,” no. October 2019, pp. 1–14, 2020, doi: 10.1002/aoc.5491.
- [120] I. Palabiyik, O. Said, T. Nevzat, and K. Barış, “Development of a Natural Chewing Gum from Plant Based Polymer,” *J. Polym. Environ.*, vol. 26, no. 5, pp. 1969–1978, 2018, doi: 10.1007/s10924-017-1094-2.
- [121] B. Z. Awen, C. R. Unnithan, S. Ravi, and A. J. Lakshmanan, “GC-MS Analysis, Antibacterial Activity and Genotoxic Property of *Erigeron mucronatus* Essential Oil,” *Nat. Prod. Commun.*, vol. 5, no. 4, pp. 621–624, 2010.
- [122] E. S. Franco *et al.*, “Evaluation of the Acute Toxicity , Cytotoxicity , and Genotoxicity of *Chresta martii* ( Asteraceae ),” *J. Toxicol. Environ. Heal. Part A*, vol. 78, no. 17, pp. 1083–1093, 2015, doi: 10.1080/15287394.2014.1004007.
- [123] M. A. Zan *et al.*, “*In vivo* Genotoxicity Evaluation of an Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Aqueous Extract,” *J. Food Sci.*, vol. 78, no. 2, pp. T367–T371, 2013, doi: 10.1111/1750-3841.12034.
- [124] C. M. Güz, E. P. Waczuk, K. B. Pereira, M. V. M. Querol, J. B. T. da Rocha, and L. F. S. de Oliveira, “*In vivo* and *in vitro* Genotoxicity Studies of Aqueous Extract of *Xanthium spinosum*,” *Brazilian J. Pharm. Sci.*, vol. 48, no. 3, pp. 461–467, 2012, doi: 10.1590/S1984-82502012000300013.
- [125] I. J. Guerra-Santos, J. D. Rocha, C. R. Vale, W. C. Sousa, A. M. Teles, and S. Carvalho, “*Vernonanthura polyanthes* Leaves Aqueous Extract Enhances Doxorubicin Genotoxicity in Somatic Cells of *Drosophila melanogaster* and Presents

- no Antifungal Activity against *Candida* spp.,” *Braz. J. Biol.*, vol. 76, no. 4, pp. 928–936, 2016.
- [126] H. E. Eroğlu, Ü. Budak, E. Hamzaoğlu, A. Aksoy, and S. Albayrak, “*In vitro* Cytotoxic Effects of Methanol Extracts of Six *Helichrysum* Taxa Used in Traditional Medicine,” *Pak. J. Bot.*, vol. 42, no. 5, pp. 3229–3237, 2010.
- [127] G. Kamila, B. Kebir, B. O. Zahia, and A. Rachid, “*In Vitro* Antihemolytic Activity of *Echinops spinosus* Tannins Extracts against Human Erythrocytes,” vol. 2018, no. 3, pp. 8–9, 2018.
- [128] A. Mukherjee and C. Rajasekaran, “*In-vitro* hemolytic activity of *Allium stracheyi* Baker,” *J. Pharm. Res.*, vol. 3, no. 5, pp. 1160–1162, 2010.
- [129] G. M. Shanthini *et al.*, “Physical and biological properties of the ion beam irradiated PMMA-based composite film,” *Appl. Surf. Sci.*, vol. 329, pp. 116–126, 2015, doi: 10.1016/j.apsusc.2014.12.129.
- [130] S. Andra, S. Balu, R. Ramamoorthy, and M. Muthalagu, “Synthesis , Characterization , and Antimicrobial Properties of Novel Dual Drug Loaded Electrospun Mat for Wound Dressing Applications,” *J. Bioact. Compat. Polym. Polym.*, vol. 36 (5), pp. 431–443, 2021, doi: 10.1177/08839115211046413.
- [131] E. Izumi and L. Gustavo, “*Trypanosoma cruzi*: Antiprotozoal Activity of Parthenolide Obtained from *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. (Asteraceae , Compositae) against Epimastigote and Amastigote Forms,” *Exp. Parasitol.*, vol. 118, pp. 324–330, 2008, doi: 10.1016/j.exppara.2007.08.015.
- [132] R. Sandu, L. Tarțau, A. Miron, M. Zagnat, C. M. Ghiciuc, and C. E. Lupușoru, “*In vivo* Biocompatibility Evaluation of Some *Bidens tripartita* Extracts in Rats,” *Rev. Medico-Chirurgicala a Soc. Medici si Nat. din Iasi*, vol. 117, no. 3, pp. 795–800, 2013.
- [133] V. Panchariya, V. Bhati, H. Madhyastha, and R. Madhyastha, “Chromatic Intervention and Biocompatibility Assay for Biosurfactant Derived from *Balanites aegyptiaca* ( L .) Del,” *Sci. Rep.*, 11, 4186, 2021, doi: 10.1038/s41598-021-83573-7.
- [134] S. Bahadorani and A. J. Hilliker, “Biological and Behavioral Effects of Heavy Metals in *Drosophila melanogaster* Adults and Larvae,” *J. Insect Behav.*, vol. 22, no. 5, pp. 399–411, 2009, doi: 10.1007/s10905-009-9181-4.
- [135] F. Ruf *et al.*, “Natural Zeitgebers Under Temperate Conditions Cannot Compensate for the Loss of a Functional Circadian Clock in Timing of a Vital Behavior in *Drosophila*,” *J. Biol. Rhythms*, vol. 36, no. 3, pp. 271–285, 2021, doi:



10.1177/0748730421998112.

- [136] A. I. Alkhamis, R. A. Magaji, M. G. Magaji, and J. Ibrahim, “Preliminary Mortality and Eclosion : Dose-Determining Factors of Aqueous Extract of *Hibiscus sabdariffa* in *Drosophila melanogaster*,” *J. African Assoc. Physiol. Sci.*, vol. 8 (1), pp. 59–61, 2020.
- [137] B. PB *et al.*, “Prophylactic Efficacy of *Boerhavia diffusa* L. Aqueous Extract in Toluene Induced Reproductive and Developmental Toxicity in *Drosophila melanogaster*,” *J. Infect. Public Health*, vol. 13, no. 2, pp. 177–185, 2020, doi: 10.1016/j.jiph.2019.07.020.

# **EKLER**

## EKLER

### EK A: Etik Kurul Kararı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU					
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		"Endemik Gundelia Dersim Bitkisinin Farklı Ekstraktlarının Sitotoksik ve Antigenotoksik Etkilerinin Araştırılması"			
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU			
	AÇIK ADRESİ:	Çağış Yerleşkesi Uşak Yolu Üzeri, 10145 BALIKESİR			
	TELEFON	266 612 14 61-216707			
	FAKS				
	E-POSTA	bauklinetik@gmail.com			
BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Serap DOĞAN			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	BALIKESİR(BAÜN Fen Edebiyat Fakültesi)			
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 4	<input type="checkbox"/>		
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>			
DİĞER İSE BELİRTİNİZ					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanı'nın  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr.Fuat EREL  
İmza:

*Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.*

Şekil A.1: Etik Kurul Kararı'nın 1. sayfası.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	“Endemik Gundelia Dersim Bitkisinin Farklı Ekstraktlarının Sitotoksik ve Antigenotoksik Etkilerinin Araştırılması”
-----------------------	--

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili			
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama					
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>					
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>					
	ILAN	<input type="checkbox"/>					
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>					
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>					
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>					
KARAR BİLGİLERİ	<b>Karar No:2021/133</b>	<b>Tarih:23.06.2021</b>					
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerden izin alınması şartıyla gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının oybirliği ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.						

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof.Dr.Fuat EREL	Göğüs Hastalıkları AD	BAÜN Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Gülten ERKEN	Fizyoloji AD	BAÜN Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Akın USTA	Kadın Hastalıkları ve Doğum AD	BAÜN Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Eren ALTUN	Patoloji AD	BAÜN Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr.Öğr.Üyesi Elif AKSÖZ	Tıbbi Farmakoloji AD	BAÜN Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm.Dr.Mehmet ÇALIŞKAN	Halk Sağlığı Uzmanı	Balıkesir KEAS Organize Sanayi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Av.Erman ARDA	Avukat	Serbest	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Hüsnü KUNDAKÇI	Eczacı	Balıkesir Sağlık Uygulama ve Arş.Hast.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Serhat ALDEMİR	Emekli		E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

\*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının

Unvanı/Adı/Soyadı:Prof.Dr.Fuat EREL

İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

Şekil A.2: Etik Kurul Kararı'nın 2. sayfası.

# ÖZGEÇMİŞ

## Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Saliha AYDIN  
Doğum tarihi ve yeri : 01.02.1997  
e-posta : aydnsaliha@yahoo.com.tr

## Öğrenim Bilgileri

Derece	Okul/Program	Yıl
Y. Lisans	Balıkesir Üniversitesi/Moleküler Biyoloji ve Genetik	2020-22
Lisans	Balıkesir Üniversitesi/ Moleküler Biyoloji ve Genetik	2015-19
Lise	Merkez Anadolu İmam-Hatip Lisesi; Bursa	2011-15

## Yayın Listesi

- Begümhan Yılmaz Kardeş, **Saliha Aydın**, Mehmet Emin Diken, Mikail Açar, Serap Doğan, “*Gundelia darsim* Bitkisinin Sitotoksik Etkilerinin ve Hemouyumluluğunun İncelenmesi”, 9. Ulusal MOLBIOTECH Kongresi, 18-20 Aralık 2020 [Tezden türetilmiştir].