



T.C.

ANKARA YILDIRIM BEYAZIT ÜNİVERSİTESİ
HALK SAĞLIĞI ENSTİTÜSÜ

***Bolanthus turcicus* Koç & Hamzaoglu ve YAKIN TÜRLERİN
TAKSONOMİSİ, FİTOKİMYASAL İÇERİĞİ ile PANKREAS
KANSER HÜCRE HATTI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Derya ALTAY

BİYOTERAPÖTİK ÜRÜNLER
ARAŞTIRMA VE GELİŞTİRME ANA BİLİM DALI

ANKARA, 2024

T.C.
ANKARA YILDIRIM BEYAZIT ÜNİVERSİTESİ
HALK SAĞLIĞI ENSTİTÜSÜ

***Bolanthus turcicus* Koç & Hamzaoglu ve YAKIN TÜRLERİN
TAKSONOMİSİ, FİTOKİMYASAL İÇERİĞİ ile PANKREAS
KANSER HÜCRE HATTI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Derya ALTAY

BİYOTERAPÖTİK ÜRÜNLER
ARAŞTIRMA ve GELİŞTİRME ANA BİLİM DALI

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Murat KOÇ

ANKARA, 2024

T.C.
ANKARA YILDIRIM BEYAZIT ÜNİVERSİTESİ
HALK SAĞLIĞI ENSTİTÜSÜ

Bolanthus turcicus Koç & Hamzaoglu ve Yakın Türlerin Taksonomisi, Fitokimyasal
İçeriği ile Pankreas Kanseri Hücre Hattı Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması

Derya ALTAY

Doktora Tezi

07.03.2024

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Murat KOÇ

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Salih MOLLAHALİLOĞLU

Prof. Dr. Murat KOÇ

Prof. Dr. Betül SEVER YILMAZ

Doç. Dr. Sinem ASLAN ERDEM

Dr. Öğr. Üyesi Aslı CAN AĞCA

Okuduğumuz ve dinlediğimiz bu tezin bir Doktora derecesi için tüm kapsam ve kalite
gereksinimini karşıladığını beyan ederiz.

Prof. Dr. Salih MOLLAHALİLOĞLU

Enstitü Müdürü

Bu tezin Doktora derecesi için tüm gereklilikleri karşıladığını onaylıyorum.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tezde kullanılmış olan tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

07.03.2024

Derya ALTAY



TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, *Bolanthus turcicus* Koç & Hamzaoglu ve yakın türlerin taksonomisi, fitokimyasal içeriği ile pankreas kanser hücre hattı üzerindeki etkilerinin araştırılması amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmanın yürütülmesinde olduğu kadar lisans, yüksek lisans ve doktora eğitimim boyunca da beni yönlendiren, bilgisini, emeğini, desteğini, tecrübesini ve hoşgörüsünü benden esirgemeyen, bir öğrencisi olarak değil meslektaş olarak gören bana hep güvenen birlikte çalışmaktan onur ve mutluluk duyduğum, sayın danışman hocam Prof. Dr. Murat KOÇ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında gerekli tüm olanakları sağlayan Geleneksel, Tamamlayıcı ve Entegratif Tıp Ana Bilim Dalı Başkanı sayın hocam Prof. Dr. Salih MOLLAHALİLOĞLU'na ayrıca teşekkür ederim.

Tez izleme toplantılarına katılarak araştırmalarım esnasında bana destek olan, bilgisini her zaman büyük bir özveri ile paylaşan, bilgi ve önerileriyle tezimin yönlendirilmesine katkı sunan Sayın Prof. Dr. Betül SEVER YILMAZ ve Dr. Öğr. Üyesi Aslı CAN AĞCA'a teşekkür ederim.

Aktivite çalışmalarını birlikte yürüttüğümüz, çalışmalarım sırasında beni motive eden ve destek olan Sayın Prof. Dr. Sibel ÖZDAŞ ile aktivite çalışmalarında yardımcı olan araştırma görevlisi arkadaşım İpek CANATAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Bilgi ve birikimlerini her zaman benimle paylaşan Ankara Üniversitesi Farmakognozi Anabilim Dalı Öğretim üyesi Doç. Dr. Sinem ASLAN ERDEM'e teşekkür ederim. Aktivite çalışmalarını birlikte yürüttüğümüz, çalışmalarım sırasında destek olan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Sezen YILMAZ SARIALTIN'a teşekkürlerimi sunarım.

Arazi planlamalarımnda bana yardımcı olan ve bitkilerimi teşhis eden değerli hocam Prof. Dr. Murat KOÇ'a sonsuz teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımı yürüttüğüm, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Merkez Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nin imkân ve olanaklarından yararlanmama katkı sağlayan Doç. Dr. Mustafa GÜNGÖRMÜŞ hocama teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımı yürüttüğüm, Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı Laboratuvar imkân ve olanaklarından yararlanmama imkân tanıyan Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gülçin SALTAN İşCAN hocama teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemi sağlayan, hayatımın her noktasında beni yalnız bırakmayıp maddi, manevi, sevgi ve destekleriyle arkamda duran, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim tüm aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatıma girdiği andan itibaren her zaman desteğini ve sevgisini benden esirgemeyen sevgili eşim Ersin ALTAY' a ve oğlum Yusuf Aras ALTAY' a, sabırları, sevecenlikleri ve en önemlisi beni hiç yalnız bırakmadıkları için sonsuz teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

Doktora çalışmam sırasında bağımsız proje ile maddi destek sağlayan Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

Derya ALTAY

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	g
ÖZET.....	gv
ABSTRACT.....	vg
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vggg
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xgv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Pankreas.....	6
2.1.1. Pankreas Kanserg.....	8
2.1.2. Pankreas Kanserg Epgdemgyolojgsg	10
2.1.3. Pankreas Kanserg Rgsk Faktörlerg.....	12
2.1.4. Pankreas Kanserg Belgrtglerg	14
2.2. <i>Bolanthus</i> (Ser.) Rchb. Cgnsngn Botangk Özellgklerg.....	16
2.2.1. Caryophyllaceae Famglyasının Genel Özellgklerg	16
2.2.2. Caryophyllaceae Famglyasının Morfolojgk Özellgklerg	17
2.2.3. <i>Bolanthus</i> (Ser.) Rchb. Cgnsngn Genel Özellgklerg.....	18
2.2.4. <i>Bolanthus</i> (Ser.) Rchb. Cgnsngn Morfolojgk Özellgklerg.....	20
2.3. Fenolgk Bgleşgkler ve Flavonogtler	21
2.4. <i>Bolanthus</i> (Ser.) Rchb. Türlerg Üzergnde Yapılan Çalışmalar.....	22
3. MATERYAL VE YÖNTEM	27
3.1. Bgtksgel Materyal Temgng	27
3.2. Anatomgk Yöntemler	29
3.2.1. Bgtksgel Örneklergn Tespgtg	29
3.2.2. Dehgdrasyon ve Parafgne Doyurma	29
3.2.3. Dokuların Parafgne Gömülmesg.....	31
3.2.4. Safrangn Fast-Green Boyama İşlemg.....	31
3.2.5. Preparatların Işık Mgkroskobu gle İncelenmesg ve Hücre Ölçümü.....	33
3.2.6. İstatgstgksel	33
3.3. Fgtokgmyasal Çalışmalar	34

3.3.1. Ekstraksiyon.....	34
3.3.1.1. Total Metanol Ekstresiyon Hazırlanması	34
3.3.1.2. Total Metanol Ekstresiyon Fraksiyonlandırılması	34
3.3.2. Toplam Fenolik Madde Miktar Tayini	34
3.3.3. Toplam Flavonoid Madde Miktar Tayini	35
3.3.4. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Uygulamaları	37
3.3.5. LC-MS-QTOF Uygulamaları	38
3.4. Antoksidan Aktivite Tayini	39
3.4.1. ABTS Serbest Radikalın Süpürücü Aktivite Tayini.....	39
3.4.2. DPPH Serbest Radikalın Süpürücü Aktivite Tayini.....	40
3.4.3. FRAP (Demir III İndirgeyici) Antoksidan Güç Tayini	40
3.5. İn Vitro Hücre Kültürü Çalışmaları	41
3.5.1. MIA PaCa-2 ve HUC-F Hücre Hattı	41
3.5.1.1. MIA PaCa-2 ve HUC-F Hücre Hattının Özellikleri	41
3.5.1.2. MIA PaCa-2 ve HUC-F Hücre Hattının Kültüre Edilmesi	42
3.5.1.3. Hücrelerin Kontrolü	42
3.5.1.4. Hücre Besiyerinin Değiştirilmesi	43
3.5.1.5. Hücrelerin Pasajlanması	43
3.5.1.6. Hücrelerin Dondurulması ve Saklanması	44
3.5.1.7. Dondurulmuş Hücre Hattının Çözülmesi	44
3.5.1.8. Hücre Sayımı ve Hücre Canlılığının Belirlenmesi	45
3.5.2. Bgk Ekstrelerinin Hazırlanması	45
3.5.2.1. Bgk Ekstrelerine Muamele	45
3.5.3. MTT analizi	46
3.5.4. Hücre Migrasyon Analizleri için Çizgi Testi	47
3.5.5. İmmünofloresans Boyama	49
3.5.6. Hücre Apoptoz Analizleri için Caspase-3 Aktivite Testi.....	50
3.5.7. qRT-PCR Analizi ile Hücrelerde <i>CASP-3</i> , <i>BAX</i> ve <i>BCL-2</i> Genlerinin mRNA Ekspresyon Düzeyinin Değerlendirilmesi	53
3.5.7.1. Total RNA İzasyonu	53
3.5.7.2. Total RNA Miktarının Ölçümü	55
3.5.7.3. cDNA Sentezi	55
3.5.7.4. Gradient PCR	57

3.5.7.5. Agaroz Jel Elektroforez	58
3.5.7.6. Agaroz Jelden DNA Ekstraksiyonu	60
3.5.7.7. DNA Miktarının Ölçümü	60
3.5.7.8. Standart Hazırlığı	61
3.5.7.9. qRT-PCR Analizleri	61
3.6. İstatistiksel Analiz	62
4. BULGULAR	63
5. TARTIŞMA	141
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	160
7. KAYNAKLAR	163
8. EKLER	181
ÖZGEÇMİŞ	

ÖZET

Doktora Tezi

Bolanthus turcicus Koç & Hamzaoglu ve YAKIN TÜRLERİNİN TAKSONOMİSİ, FİTOKİMYASAL İÇERİĞİ ile PANKREAS KANSER HÜCRE HATTI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Derya ALTAY

Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi

Halk Sağlığı Enstitüsü

Biyoterapötik Ürünler, Araştırma ve Geliştirme Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Murat Koç

Pankreas kanseri, özellikle erken teşhis zorluğu, agresif seyri ve mevcut tedavi seçeneklerine karşı direnci nedeniyle ciddi bir sağlık sorununu temsil etmektedir. Bazı bitkiler, kanserle mücadelede potansiyel yararlar sunabilir. Özellikle antioksidanlar, antienflamatuvar bileşenler ve kanser hücrelerinin büyümesini engelleyebilen maddeler içeren bitkiler, kanser riskini azaltmada veya tedavi destekleyici olarak kullanılabilir. Bu tez kapsamında, *Bolanthus turcicus* Koç & Hamzaoglu 'un farklı çözücü ekstraktlarının HUC-F ve MIA PaCa-2 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri MTT Kolorimetrik Yöntemi ile belirlenmiştir. Potansiyel antikanser aktivitesine sahip olan *B. turcicus* bitki ekstraktlarının HUC-F ve MIA PaCa-2 hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisi, scratch çizik testi ve hücre sağkalımı ikili boyama (DAPI-F-ACTIN) analizi ile doğrulanmıştır. Daha sonra, potansiyel antikanser aktivitesine sahip olan *B. turcicus* ekstraktlarının apoptotik aktivitesi florometrik (Kaspaz 3 aktivasyonu analizi) ve moleküler (qRT-PCR analizi) olarak değerlendirilmiştir. MTT analizi sonuçlarına göre, 24. saatte elde edilen verilere göre *B. turcicus* ekstresinin sağlıklı hücre hattı HUC-F üzerindeki düşük sitotoksikite ve pankreas kanseri hücre hattı MIA PaCa-2 üzerindeki seçici yüksek sitotoksikite göstermiştir. *B. turcicus*'un metanol, kloroform, *n*-hekzan, etil asetat ve su ekstraktları elde edilmiş ve bu ekstraktların antioksidan

kapasitesi Toplam Fenolik Madde, Toplam Flavonoit Madde, ABTS, DPPH, FRAP deneyleri ile ölçülmüştür. Yapılan deneyler sonucunda metanol ekstresinin en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, bitkinin fitokimyasal içeriği YPSK ve LC-MS-QTOF analizleri ile belirlenmiştir. Türkiye'ye endemik olan 6 *Bolanthus* taksonu üzerinde yapılan kök, gövde ve yaprak anatomisi incelenmiştir. Kök anatomisinde peridermis, korteks, ksilem ve floem yapıları gözlenmiş, kök peridermisi içinde dikdörtgen fellemlerinin yer aldığını ve korteksin düzenli oval veya dikdörtgen parankimatik hücrelerden oluştuğu belirlenmiştir. Gövde anatomisinde epidermis, korteks, sklerankima, floem, ksilem ve öz yapıları gözlemlenirken, epidermis tabakasının tek sıralı düzenli dikdörtgenimsi hücrelerden oluştuğu ve sık tüylerle kaplı olduğu belirlenmiştir. Gövde de yoğun druz kristalleri gözlenmiştir. Yaprak anatomisinde ise epidermis, mezofil ve iletim demetleri gözlemlenmiş; epidermin üst ve alt yüzeyinde tek sıralı düzenli dikdörtgen, kare ve oval hücrelerin bulunduğu, mezofil dokusunun ekvifasiyal tipte olduğu ve iletim demetlerinin orta kısımlarda yer aldığı belirlenmiştir. Yaprak orta damarında yoğun druz kristalleri gözlenmiştir.

Mart 2024, 204 sayfa

Anahtar Kelimeler: Caryophyllaceae; *Bolanthus*; Anatomi, YPSK; LC-MS-QTOF; Pankreas kanseri; MIA PaCa-2

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

TAXONOMY OF *Bolanthus turcicus* Koç & Hamzaoglu and CLOSE SPECIES,
INVESTIGATION OF PHYTOCHEMICAL CONTENT, and THEIR EFFECTS ON
PANCREATIC CANCER CELL LINE.

Derya ALTAY

Ankara Yıldırım Beyazıt University

Institute of Public Health

Biotherapeutic Products, Research and Development Department

Supervgsor: Prof.Dr. Murat KOÇ

Pancreatic cancer represents a serious health problem due to the difficulty of early diagnosis, its aggressive course, and resistance to current treatment options. Some plants may offer potential benefits against cancer, particularly those containing antioxidants, anti-inflammatory components, and substances that can inhibit the growth of cancer cells. In this thesis, the cytotoxic effects of different solvent extracts of *Bolanthus turcicus* Koç & Hamzaoglu on HUC-F and MIA PaCa-2 cells were determined using the MTT Colorimetric Method. The potential anticancer activity of *B. turcicus* plant extracts on HUC-F and MIA PaCa-2 cell lines was confirmed through scratch test and cell survival dual staining (DAPI-F-ACTIN) analysis. Subsequently, the apoptotic activity of *B. turcicus* extracts with potential anticancer activity was evaluated through fluorometric (Caspase 3 activation analysis) and molecular (qRT-PCR analysis) methods. According to the MTT analysis results at 24 hours, the data obtained indicated low cytotoxicity of *B. turcicus* extract on the healthy cell line HUC-F, and selectively high cytotoxicity on the pancreatic cancer cell line MIA PaCa-2. *B. turcicus* extracts were obtained using methanol, chloroform, n-hexane, ethyl acetate, and water, and the antioxidant capacity of these extracts was measured through experiments such as Total Phenolic Substance, Total Flavonoit Substance, ABTS, DPPH, FRAP. According to the experiments, the methanol extract exhibited the highest antioxidant

activity. Additionally, the phytochemical content of the plant was determined through HPLC and LC-MS-QTOF Analyses. Anatomical studies of the root, stem, and leaf were conducted on 6 *Bolanthus* taxon endemic to Turkiye. In root anatomy, structures such as periderm, cortex, xylem, and phloem were observed. It was determined that the root periderm contained rectangular cork cambium cells, and the cortex consisted of regularly oval or rectangular parenchymatous cells. The conducting bundle system includes both phloem and xylem, but no druse crystals were found in the root. In stem anatomy, structures such as epidermis, cortex, sclerenchyma, phloem, xylem, and pith were observed. The epidermal layer consists of a single row of regular rectangular cells and is covered with dense trichomes. The cortex is composed of cylindrical parenchymatous cells and contains druse crystals in the endodermis layer. The conducting bundle system includes both phloem and xylem. In cross-sections of the stem, there is a wide pith region where large, transparent, and usually empty round pith cells are found. In leaf anatomy, epidermis, mesophyll, and vascular bundles were observed. The epidermis on the upper and lower surfaces consists of a single row of regular rectangular, square, and oval cells. The mesophyll tissue is of equifacial type and includes palisade parenchyma and spongy parenchyma. Vascular bundles, the largest of which is located on the midrib, are found in the middle sections. Collateral vascular bundles contain xylem, phloem, and sclerenchyma cells. Dense druse crystals are observed in the midrib of the leaf.

Mart 2024, 204 papes

Key Words: Caryophyllaceae; *Bolanthus*, Anatomy, HPLC; LC-MS-QTOF, Pancreatgc Cancer; MIA PaCa-2

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
µL	: Mıgkrolgtre
mL	: Mıglıgtre
mg	: Mılggram
g	: Gram
µm	: Mıgkrometre
nm	: Nanometre
DM	: Dıgabetes mellıgtus
TPC	: Toplam fenolıgk gııergk
TFC	: Toplam flavonolgt gııergk
ABTS	: 2,2'-azıno-bıgs (3-etılbıenzotgazolıgn-6 sülfontıgk asıgt)
DPPH	: 2,2,-dıfengl-1-pıgkrlıhgdrızgl
FRAP	: Ferrıg Reducıng Antıoxıgdant power (Demıg İndırgıeyıgıg Antıokısgdan Güıı)
GAE	: Gallıg Asıgt Eııdeıerg
TEAC	: Trolox Eııdeıerg Antıokısgdan Kaptıgtesıg
TPTZ	: 2,4,6-Trıppırgdıgl-s-Trıgazıgn
IC ₅₀	: The half maxımal gınhıgbıgtory concentratıgn (ıgn vıgtro testlerde %50 gınhıgbıgsıyon oluııtırana konsantrasyona)
MeOH	: Metanol
EA	: Etıgl asetata
Aq	: Su
NO	: Nıgtrıgk Okısgı
YPSK	: Ylıksek Performans Sıvı Kromatografıgıg
RT	: Retansıyon zamanı
pe	: Pırgdermıgs
ep	: Epgdermıgs
en	: Endoderms
fl	: Floem
ks	: Ksıgılem
ko	: Korteks

ku	: Kutgkula
ö	: Öz hücrelerg
sk	: Sklerankgma
pp	: Palgzat Parankgması
sp	: Sünger Parankgması
ae	: Alt Epgdermgs
üe	: Üst Epgdermgs
dr	: Druz krgstalg
dk	: Demet kını
st	: Stoma
Od	: İletgm demetg
DMEM	: Dulbecco's Modgfged Eagle Medgum
DMSO	: Dgmetgl sülfoksgt
FBS	: Fetal sığır serumu
PBS	: Fosfat tamponlu salgı
BSA	: Bovgne Serum Albumgn
PDAK	: Pankreatgk duktal adenokarsgnom
WHO	: Dünya Sağık Örgütü
LOD	: Lgmgt of Detectgon (teşhgs edglebglgr en düşük lgmgt -teşhgs sınırı)
LOQ	: Lgmgt of Quantgtatgon (hesaplanabglgr en düşük lgmgt- taygn sınırı)
BHT	: Butgl Hgdroksg Toluen
MTT	: 3-(4,5-Dgmethylthgazol-2-thgozoly)-2,5-dgphenyl-2H-tetrazolgum bromgde
RPMI	: Roswell Park Memorgal Instgtute medgum
ATTC	: Amergcan Type Culture Collectgon
DPBS	: Dulbecco's phosphate-buffered salgı
Max	: Maksgmum
MOn	: Mgngmum
Ort.	: Ortalama
YPSK	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografsg
LC/Q-TOF /MS	: Sıvı Kromatografisi-Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞekOl 2.1. Pankreas organının anatomgsgnng şematgk şeklg	8
ŞekOl 2.2. <i>Bolanthus</i> (Ser.) Rchb. cgnsgnngn sınıflandırılması	17
ŞekOl 2.3. <i>Bolanthus</i> (Ser.) Rchb. cgnsgnngn sgstematgktekg yerg	20
ŞekOl 3.1. <i>B. az;z-sancar;;</i> Koç & Hamzaoğlu, <i>B. cherler;o;des</i> (Bornm.) Barkoudah, <i>B. confert;fol;us</i> (Hub.-Mor.) Madhang & Heubl, <i>B. m;nuart;o;des</i> (Jaub. & Spach) Hub.-Mor., <i>B. thymo;des</i> Hub.-Mor. ve <i>B. turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu 'nun Türkgye'dekg yayılış alanları	28
ŞekOl 3.2 <i>Bolanthus turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu' nun habgtat görünüşü.....	28
ŞekOl 3.3. Toplam fenolgk madde taygng yöntem basamakları	35
ŞekOl 3.4. Toplam flavonogt madde taygng yöntem basamakları	36
ŞekOl 4.1. <i>Bolanthus turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu taksonu kök engne kesgtg genel görüntüsü (200µm)	64
ŞekOl 4.2. <i>Bolanthus turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu taksonu kök engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (100µm)	64
ŞekOl 4.3. <i>Bolanthus turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu taksonu gövde engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm)	66
ŞekOl 4.4. <i>Bolanthus turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu taksonu gövde engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50 µm)	66
ŞekOl 4.5. <i>Bolanthus turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu taksonu yaprak engne kesgtg genel görüntüsü (100µm)	68
ŞekOl 4.6. <i>Bolanthus turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu taksonu yaprak engne kesgtg orta damar ayrıntılı görüntüsü (50 µm).....	68
ŞekOl 4.7. <i>Bolanthus confert;fol;us</i> (Hub.-Mor.) Madhang & Heubl taksonu kök engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm).....	70
ŞekOl 4.8. <i>Bolanthus confert;fol;us</i> (Hub.-Mor.) Madhang & Heubl taksonu kök engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50 µm)	70
ŞekOl 4.9. <i>Bolanthus confert;fol;us</i> (Hub.-Mor.) Madhang & Heubl taksonu gövde engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm).....	72
ŞekOl 4.10. <i>Bolanthus confert;fol;us</i> (Hub.-Mor.) Madhang & Heubl taksonu gövde engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50 µm).....	72

ŞekOl 4.11. <i>Bolanthus confert;fol;us</i> (Hub.-Mor.) Madhang & Heubl taksonu yaprak engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm)	74
ŞekOl 4.12. <i>Bolanthus confert;fol;us</i> (Hub.-Mor.) Madhang & Heubl taksonu yaprak engne kesgtg orta damar ayrıntılı görüntüsü (50 µm)	74
ŞekOl 4.13. <i>Bolanthus thymo;des</i> Hub.-Mor. taksonu kök engne kesgtg genel görüntüsü (200 µm)	76
ŞekOl 4.14. <i>Bolanthus thymo;des</i> Hub.-Mor. taksonu kök engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50 µm)	76
ŞekOl 4.15. <i>Bolanthus thymo;des</i> Hub.-Mor. taksonu gövde engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm)	78
ŞekOl 4.16. <i>Bolanthus thymo;des</i> Hub.-Mor. taksonu gövde engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50 µm)	78
ŞekOl 4.17. <i>Bolanthus thymo;des</i> Hub.-Mor. yaprak engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm)	80
ŞekOl 4.18. <i>Bolanthus thymo;des</i> Hub.-Mor. taksonu yaprak engne kesgtg orta damar ayrıntılı görüntüsü (50 µm)	80
ŞekOl 4.19. <i>Bolanthus cherler;o;des</i> (Bornm.) Barkoudah taksonu kök engne kesgtg genel görüntüsü (100µm)	82
ŞekOl 4.20. <i>Bolanthus cherler;o;des</i> (Bornm.) Barkoudah taksonu kök engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50µm)	82
ŞekOl 4.21. <i>Bolanthus cherler;o;des</i> (Bornm.) Barkoudah taksonu gövde engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm)	84
ŞekOl 4.22. <i>Bolanthus cherler;o;des</i> (Bornm.) Barkoudah taksonu gövde engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50 µm)	84
ŞekOl 4.23. <i>Bolanthus cherler;o;des</i> (Bornm.) Barkoudah taksonu yaprak engne kesgtg genel görüntüsü (50 µm)	86
ŞekOl 4.24. <i>Bolanthus cherler;o;des</i> (Bornm.) Barkoudah taksonu yaprak engne kesgtg orta damar ayrıntılı görüntüsü (50 µm)	86
ŞekOl 4.25. <i>Bolanthus m;nuart;o;des</i> (Jaub. & Spach) Hub.-Mor. taksonu kök engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm)	88
ŞekOl 4.26. <i>Bolanthus m;nuart;o;des</i> (Jaub. & Spach) Hub.-Mor. taksonu kök engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50 µm)	88

ŞekOl 4.27. <i>Bolanthus m;nuart;o;des</i> (Jaub. & Spach) Hub.-Mor. taksonu gövde engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm).....	90
ŞekOl 4.28. <i>Bolanthus m;nuart;o;des</i> (Jaub. & Spach) Hub.-Mor. taksonu gövde engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50 µm).....	90
ŞekOl 4.29. <i>Bolanthus m;nuart;o;des</i> (Jaub. & Spach) Hub.-Mor. taksonu yaprak engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm).....	92
ŞekOl 4.30. <i>Bolanthus m;nuart;o;des</i> (Jaub. & Spach) Hub.-Mor. taksonu yaprak engne kesgtg orta damar ayrıntılı görüntüsü (50 µm).....	92
ŞekOl 4.31. <i>Bolanthus az;z-sancar;;</i> Koç & Hamzaoğlu taksonu kök engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm)	94
ŞekOl 4.32. <i>Bolanthus az;z-sancar;;</i> Koç & Hamzaoğlu taksonu kök engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50 µm)	94
ŞekOl 4.33. <i>Bolanthus az;z-sancar;;</i> Koç & Hamzaoğlu taksonu gövde engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm)	96
ŞekOl 4.34. <i>Bolanthus az;z-sancar;;</i> Koç & Hamzaoğlu taksonu gövde engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50 µm)	96
ŞekOl 4.35. <i>Bolanthus az;z-sancar;;</i> Koç & Hamzaoğlu taksonu yaprak engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm)	98
ŞekOl 4.36. <i>Bolanthus az;z-sancar;;</i> Koç & Hamzaoğlu taksonu yaprak engne kesgtg orta damar ayrıntılı görüntüsü (50 µm).....	98
ŞekOl 4.37. Tüm taksonlar gçgn kök anatomgk yapıları en -boy Kruskal-Wallgs testg değerlerg	104
ŞekOl 4.38. Tüm taksonlar gçgn gövde anatomgk yapıları en -boy Kruskal-Wallgs testg değerlerg	105
ŞekOl 4.39. Tüm taksonlar gçgn yaprak anatomgk yapıları en -boy Kruskal-Wallgs testg değerlerg	106
ŞekOl 4.40. Taksonların anatomgk karakterlergngn benzerlgknergne göre hgyerarşgk kümeleme gle dendrogram analgzg.....	108
ŞekOl 4.41. <i>Bolanthus turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu 'un fraksgyonlandırılması sonucu elde edilen ekstreler ve mgktarları.....	110
ŞekOl 4.42. <i>Bolanthus turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu 'un topraküstü kısmından hazırlanan ekstrelergn toplam fenolgk madde mgktarı gçgn gallgk asgt kalgbrasyon eğrgsg.....	111

ŞekOl 4.43. <i>Bolanthus turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu 'un topraküstü kısmından hazırlanan ekstrelergn toplam flavonogt madde mgktarı gçgn kersetgn kalğbrasyon eğrgsg	112
ŞekOl 4.44. İzoorgentgn kalğbrasyon grafgğg ve denklemg	113
ŞekOl 4.45. <i>Bolanthus turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu metanol ekstresgngn YPSK kromatogramı (210nm).....	114
ŞekOl 4.46. <i>Bolanthus turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu ekstrelergngn MIA PaCa-2 hücrelergndekg sgtotoksgk etkgsgng gösteren MTT yöntem vergsg.....	122
ŞekOl 4.47. <i>Bolanthus turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu ekstrelergngn HUC-F hücrelergndekg sgtotoksgk etkgsgng gösteren MTT yöntem vergsg.....	123
ŞekOl 4.48. <i>Bolanthus turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu ekstrelergngn MIA PaCa-2 ve HUC-F hücre morfolojsg üzergndekg etkgsgng gösteren gnverted faz-kontrast ve gmmünoflorasans boyama vergsg.....	125
ŞekOl 4.49. <i>Bolanthus turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu ekstrelergngn MIA PaCa-2 ve HUC-F hücre apoptotgk nükleer morfolojsg üzergndekg etkgsgng gösteren gmmünoflorasans boyama vergsg.....	128
ŞekOl 4.50. <i>Bolanthus turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu ekstrelergngn, MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelergngn moblgtesg üzergndekg etkgsgng gösteren scratch yöntem vergsg.....	133
ŞekOl 4.51. <i>Bolanthus turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu ekstrelergngn, MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelergngn Kaspaz-3 enzgm aktvgtesg üzergndekg etkgsgng gösteren Caspase-3 yöntem vergsg	136
ŞekOl 4.52. <i>Bolanthus turc;cus</i> Koç & Hamzaoğlu ekstrelergngn, MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelergngn Kaspaz-3 enzgm aktvgtesg üzergndekg etkgsgng gösteren qRT-PCR vergsg	140

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Çalışılan <i>Bolanthus</i> (Ser.) Rchb. taksonlarına ağıt lokalite ve herbaryum vergileri	27
Tablo 3.2. Dehidrasyon işlemi basamakları.....	30
Tablo 3.3. Safranin- Fast Green boyama yöntemi basamakları	32
Tablo 3.4. Metanol ekstraksiyonu YPSK analizlerinde kullanılan gradient elüsyon sistemi..	37
Tablo 3.5. HPLC ve MS analizlerinde kullanılan gradient elüsyon sistemi	38
Tablo 3.6. RNA örnekleri ve cDNA örneklerinin miktarları	55
Tablo 3.7. cDNA enzim karışımı örnekleri ve miktarları.....	56
Tablo 3.8. Negatif kontrol için örnekler ve miktarları.....	56
Tablo 3.9. PCR çalışması için gerekli örnekler ve miktarları.....	57
Tablo 3.10. PCR reaksiyonu parametreleri	58
Tablo 3.11. GoTaq® qPCR Master Mix PCR örnekleri	62
Tablo 3.12. GoTaq PCR amplifikasyon koşulları	62
Tablo 4.1. Çalışılan <i>Bolanthus</i> (Ser.) Rchb. türlerinin kök karşılaştırmalı anatomisi.....	99
Tablo 4.2. Çalışılan <i>Bolanthus</i> (Ser.) Rchb. türlerinin gövde karşılaştırmalı anatomisi. 100	
Tablo 4.3. Çalışılan <i>Bolanthus</i> (Ser.) Rchb. türlerinin yaprak karşılaştırmalı anatomisi . 101	
Tablo 4.4. <i>Bolanthus turcicus</i> Koç & Hamzaoglu 'un topraküstü kısmından hazırlanan ekstraktların toplam fenolik ve toplam flavonoid madde miktarları.....	112
Tablo 4.5. İzotermik retansiyon zamanı, standart eğri denklemi, R ² , LOD ve LOQ değerleri, % miktarı.....	113
Tablo 4.6. Tanımlanan maddelerin farklı ekstraktlardaki retansiyon zamanları.....	116
Tablo 4.7. <i>Bolanthus turcicus</i> Koç & Hamzaoglu ekstraktlarının ABTS serbest radikalıng süpürme kapasiteleri	117
Tablo 4.8. <i>Bolanthus turcicus</i> Koç & Hamzaoglu ekstraktlarının DPPH serbest radikalıng süpürme kapasiteleri	118
Tablo 4.9. <i>Bolanthus turcicus</i> Koç & Hamzaoglu ekstraktlarının FRAP serbest radikalıng süpürme kapasiteleri	119

1. GİRİŞ

Kanserin temel nedeni, hücresel büyüme, olgunlaşma ve programlanmış hücre ölümü üzerindeki normal düzenlemeleri bozan veya ortadan kaldıran DNA'da meydana gelen değişiklikler, yani mutasyonlardır. Kanser hücreleri, yakındaki dokulara sızarak ve vücudun uzak bölgelerine metastaz yaparak gıstglaya devam ederler. Metastaz, kanser oluşumunun en ölümcül yönüdür. Bu süreç kontrol altına alınmazsa, organizmanın ölümüne yol açabilen bir şekilde ilerleyebilir (Manju vd. 2012). Apoptoz, programlanmış hücre ölümünün önemli ve ayırt edici bir formu olarak tanımlanır ve hücrelerin genetik olarak belirlenmiş bir süreçle ortadan kaldırılmasını sağlar. Apoptoz, belirli morfolojik ve biyokimyasal özelliklere sahip olan ve birçok molekülün katılımıyla gerçekleşen enerji gerektiren bir süreçtir. Apoptozun düzensiz gerçekleşmesi nörodejeneratif hastalıklar, genetik hasar, otoimmün bozukluklar ve birçok kanser türü ile ilişkilendirilebilir. Normal hücreler, antikanser ilaçlar ve radyasyon gibi fizyolojik olmayan stres faktörleriyle karşılaştıklarında programlanmış hücre ölümüne yönelirler. Hücre çoğalması ve/veya yetersiz apoptoz, kanser hücrelerinin en yaygın özelliklerinden biridir (Eröz vd. 2012).

Kanser, günümüzde kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci en ölümcül hastalık olarak sıralanmaktadır (You ve Henneberg, 2018). Dünya Sağlık Örgütü, 2005 ile 2015 yılları arasında yaklaşık 84 milyon kişinin kanser nedeniyle yaşamını yitirdiğini tahmin etmektedir (Reddy ve Grace, 2016). 2050 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO), dünya nüfusunun %16'sının kansere yakalanacağını öngörmektedir (Bray ve Moller, 2006). Her yıl, Amerikan Kanser Derneği, ABD'de geçen yıl geçen yeng kanser vakalarının ve ölüm sayılarının tahmini yapmakta ve kanser gıstglansı, ölüm oranı ve hayatta kalma hakkında en son verileri derlemektedir. 2016 yılı için Amerika Birleşik Devletleri'nde tahmin edilen yeng kanser vakası sayısı 1.685.210 geçen kanser kaynaklı ölümlerin 595.690 olması beklenmektedir (Siegel vd. 2016). Süregelen küresel demografik ve epidemiyolojik değişiklikler, özellikle önümüzdeki on yıl boyunca düşük ve orta gelirli ülkelerde artan kanser gıstglansına işaret etmektedir ve 2025 yılına kadar yılda 20 milyondan fazla yeng kanser vakasının beklenmesiyle yol açmaktadır (Ferlay vd. 2014). Ayrıca, her beş kişiden birinin 75 yaşına gelmeden kansere yakalanması ve bu yaş aralığında her on kişiden birinin kansere bağlı olarak ölmesi öngörülmektedir (Ferlay vd. 2015).

Kansernn kökenlern genel olarak dışsal ve gçsel faktörler olmak üzere gkg ana kategorgye ayrılablggr. Dışsal faktörler arasında kgmyasal maruzgyet, radyasyon ve vgrüsler bulunmaktadır. Özellgkle gyonlaştırıcı radyasyona ve toksgk metale maruz kalan meslek grupları, kanser rgsgk taşıyablggrler (Manzoor vd. 2016). İçsel faktörler gse hormonal etkglerg, genetgk mutasyonları ve bağışıklık koşullarını gçergr ve kansernn oluşumunu tetgkleme veya glerlemesgne katkıda bulunablggrler (Anand vd. 2008). Kansernn gnsanlardakg temel tedavg yöntemlerng, cerrahg müdahale, radyasyon terapgg ve kemoterapötgk ajanların kullanımına dayanmaktadır (Manju vd. 2012). Radyasyon terapgg, kemoterapg, cerrahg müdahale, gmmünoterapg, kanser aşıları, fotodgnamgk terapg, kök hücre dönüşümü veya bunların kombgnasyonu, genellikle kanser tedavgsgnde kullanılan yöntemlerdgr. Ancak, bu tedavglergn yaygın olarak cgddg yan etkglerle glgşkglendrgldgğg bgr gerçektgr. Bu yan etkgler arasında belgrggn olmayan semptomlar, sınırlı bgyoyaralanablggrlgk, tokssggte, hızlı elgmgnasyon ve metastazın kısıtlanması ggbg faktörler bulunmaktadır (Patra, 2014; Mukherjee ve Patra, 2016). Kemoterapötgk ajanların kullanımı, çeşgtlg tokssggte türlergne neden olablggr.

Konvansgyonel kanser tedavgsgngn temel amacı, normal hücelere mümkün olduğunca az zarar vererek tümör hücelerngng hedef alarak öldürmektgr (Smgna vd. 2016). Dünya genelndekg bglgm gnsanları, vücudun bağışıklık hücelerngng kansere karşı güçlendgrmeye odaklanarak bgtkgsel glaçlar üzerngde çalışmaktadır (Manju vd. 2012). Antgkanser bgtkglergn farklı bgleşenlerngnn karmaşık sgnerjgstgk etkgleşgmerngng anlayarak, normal hücelere zarar vermeden veya en az zararla vücudun kanser hücelerngng hedeflenen şekglde etkg edebglen bgtkgsel formölasyonlar gelgştgrme yolundadır. Mevcut kanser kemoterapötgk ajan sınıfının büyük bgr kısmı cgddg yan etkglere sahgptgr. Bu nedenle, kanser hastaları tedavg sürecngde sıklıkla cgddg yan etkglere maruz kalmaktadır (Manju vd. 2012). Bu ajanların klgngk kullanımı, doz sınırlayıcı tokssgstelerg ve glaç dgrencg nedengyle sınırlanmıştır. Bu nedenle, daha az yan etkglere sahgpp etkglg ajanların keşfg, kemoterapg alanında acgl bgr ghtgyaçtır (Smgna vd. 2016). İdeal bgr antgkanser glaçı, normal hücelere zarar vermeden veya en az zararla kanser hücelerngng hedefleyen bgr özellgk taşımalıdır. Yeng kemoterapötgk ajanların gelgştgrglmesg gçgn yeng prototgplere olan ghtgyaç süreklg devam etmektedir (Manju vd. 2012). Doğal ürünler, bu tür örneklergn tasarımında özellgkle kanser tedavgsgnde, düşük tokssggte profglg ve uygulama kolaylığı nedengyle umut vadeden yeng bgleşenlergn keşfgne katkıda bulunacağı düşüncesg gle artan bgr glgg odağı halgne gelmgştgr (Manju vd. 2012; Smgna vd. 2016).

Bgtdkglr, bgyolojgk olarak aktgf kgmyasalların 6neml g kaynakları arasında yer almaktadır. Avrupa ve ABD'de re7etelg 6r6nlergn yaklaşık %50'sgn gn doğal 6r6nlerden elde edldgđđđ veya bunlardan t6retgldgđđ tahmgn edglmektedr. D6nya genelnde 250.000 gla 500.000 arasında bgtdk t6r6 bulunsa da bu t6rlergn sadece %1 gla %10'u kgmyasal ve farmakolojgk a7ıdan potansgyel tıbbg değerlerg g7gn gncelenebgldmđđđtr. Bgtdkglr, yeng kanser tedavlglerg g7gn araştırma yapılabglecek sınırsız bgr kapasgteye sahgptgr. Yeng antgkanser bgleşkklern bgtdkglrde keşfedglmesg, kansern 6nlenmesg ve tedavg edglmesg a7ısından ger7ek7g ve 6mgt vergcg bgr stratejg olarak kabul edglmektedr (Talgb ve Mahasneh, 2010).

Bu tez 7alışmasında, T6rkgye'ye endemgk olan *B. turc;cus*, *B. confert;fol;us*, *B. m;nuart;o;des*, *B. thymo;des*, *B. cherler;o;des* ve *B. az;z-sancar;;* olmak 6zere altı *Bolanthus* taksonu 6zernde k6k, g6vde ve yaprak anatomlglerg 7alışılarak benzerlgk ve farklılıklar gstatgstgksel analgzler gle ortaya konmuştur. Pankreas kanserg, genellgkle agresgf seyr, sık7a glrg evrelerde teşhgsg, sınırlı tedavg se7eneklerg ve d6ř6k sağ kalım şanslarıyla beraber, 6neml g bgr sağlık sorunu teşkgl etmektedr. Bu bağlamda, bgldm gnsanları ve araştırmacılar, doğal kaynaklardan elde edglen bgtdk ekstrelerngn pankreas kanserg h6crelerg 6zerndekg potansgyel antgkanser etkglerngn gnceleyerek, yeng tedavg stratejlglerg gelgştrmeyg ama7lamaktadırlar. 7alışmamız kapsamında, pankreatgk epgtelyal kanser h6cre hattı olan MIA PaCa-2 ve sağlıklı kontrol olarak kullanılacak HUC-F fgbroblast h6cre hatları, ;n v;tro model olarak se7gldmđđđtr (Hgroyama vd. 2008). Potansgyel antgkanser etkgsg olan *B. turc;cus* bgtdksgn gn metanol, *n*-hekzan, kloroform, etgl asetat ve sulu ekstrelrg hazırlanacak ve MIA PaCa-2 ve HUC-F h6cre hatlarına uygulanacaktır. Bu ekstrelern h6cre prol gferasyonunu belgrlemek amacıyla 3-(4,5-Dgmethylthgazol-2- yl)-2,5-Dgphenyltetrazolgm Bromgde (MTT) testg kullanılacak ve IC₅₀ değerlerg belgrlenecektgr. İlerg araştırmalar g7gn, *B. turc;cus* ekstrelerngn IC₅₀ dozu uygulanan deney grubu ve uygulanmayan kontrol grubu h6crelernde h6cre mobgltesg Scratch- yara gygleşme testg gle araştırılacaktır (Roy ve Ngcholson, 2000; Rorth, 2012; Crowley vd. 2016). Ayrıca, apoptozgs gle glgşkglg CASP-3, BAX ve BCL-2 genlerngn mRNA sevgyesgndekg gfadesg, Kantgtatgf Real-Tgme PCR (qRT-PCR) kullanılarak belgrlenecek, apoptotgk aktgvgte florometrgk Kaspaz 3 aktgvasyonu olarak analgz edglecek ve h6cre g7g d6zeylerg İmm6noflorasan gle g6r6nt6lenerek gncelenecektgr (Jgang vd. 2014; Zhu vd. 2015; Lee vd. 2017). Bu kapsamlı araştırma, pankreas kanserg tedavsg g7gn yeng ve etkglg stratejlglergn gelgştrglmesgne katkı sağlamayı ama7lamaktadır.

Çalışma metodumuzda kullanılacak olan Toplam Fenolik Madde (TPC) ve Toplam Flavonolik Madde (TFC) tayin yöntemleri, YPSK, LC-MS-QTOF Analizleri, ABTS, DPPH, FRAP gibi antioksidan kapasite ölçümleri, Kaspaz 3, qRT-PCR, İmmünofluoresan, MTT ve Scratch assay gibi modern teknolojiler geçen yöntem ve teknikler, çalışmanın yenilikçi, güçlü ve modern bir tasarıma sahip olduğunu vurgular. Çalışmamız, daha önce biyoaktif özellikleri belirlenmemiş olan *B. turcicus*'un potansiyel antikanser etkisini incelemeyi, farklı çözücülerle hazırlanan ekstraktların analizi ve çağdaş bir tasarıma sahip *in vitro* model çalışmasını içermektedir. Bu araştırma, doğal olarak yetişen ve ülkemizde endemik olan *B. turcicus* biyoaktif kanser tedavi protokollerine ek terapötik amaçlı kullanımına ilişkin yolları açarak, ekonomik katma değeri artırabilir ve kullanım alanını genişletebilir. Bu, ilgili düzey araştırmalar için bir temel oluşturabilir. Amacımız, literatüre preklinal veriler ekleyerek, biyoaktif özellikleri belirlenmemiş bu biyoaktif potansiyel antikanser etkisini ortaya koymak ve gelecekteki araştırmalar için önemli bir katkı sağlamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Ülkemizden çok büyük bitki zenginliğine sahip olması birçok faktörün bir araya gelmesi sonucu meydana gelmiş ve bulunduğu coğrafyada komşusu olduğu ülkelere kıyasla en zengin ülkelerin başında gelir. Bu bitki zenginliğini sağlayan faktörlerin en başında Türkiye'nin Holarktık Flora Alemi'ni 3 alt bölgeye olan, Avrupa-Sibirya, Akdeniz, İran-Turan fitocoğrafik bölgelerinin kesgiği yerde olmasıdır. Ayrıca ülkemizde iklim farklılıklarının görülmesi, çok çeşitli habitat türleri, çok farklılık gösteren topoğrafik, jeolojik ve jeomorfolojik çeşitliliğe sahip olması da önemli etkenler arasındadır. Bununla beraber, deniz seviyesinden 5000 metreye kadar farklı rakımlı coğrafyası, Kuzey Anadolu'yu Güney Anadolu'ya bağlayan ve ilk kez ülkemiz florasının baş edatörü İngiliz botanikçi P.H. DAVIS tarafından ortaya konulan Anadolu Dyaagonal'ının varlığı ve Ülkemizden Avrupa coğrafyasına nazaran Buzul Dönemi'nden daha az etkilenmesi gibi etkenleri de saymak da mümkündür (Davis ve Hedge, 1975; Avcı, 1993).

Türkiye'de, her biri kendi endemik türlerine ve kendi doğal ekosistemlerine sahip Biyocoğrafik bölgelerden Avrupa-Sibirya Biyocoğrafik Bölgesi Kuzey Anadolu'da boydan boya ve Trakya Bölgesinin Karadeniz'e bakan kısımlarında uzanmaktadır. En yağışlı iklim bölgesidir, geniş kısmı ormanlarla kaplıdır. Akdeniz Biyocoğrafik Bölgesi, Akdeniz'e kıyısı olan tüm yöreleri Trakya'nın batı kısımlarını kaplar ve çok farklı ekosistem türleri geçirir. İran-Turan bölgesi, Biyocoğrafik Bölgelerin en genişidir ve Orta Anadolu'dan başlayarak Moğolistan'a kadar uzanır. Bölgede karasal iklim ve step bitkileri baskındır (Simpson ve Michael, 2012).

Bitki zenginliğini ortaya koymak için ülkemizde birçok floristik araştırmalar yapılmıştır. Türkiye'nin çeşitli bitkilerinin ve damarlı bitkileri içeren, Botanikçi P.H. Davis'in baş edatörlüğünde 11 cilt olarak yazılan "Flora of Turkey and East Aegean Islands" bilimsel bir eser vardır. Bu eserin ilk 9 cildi 1965-1985 yılları arasında yazılmıştır (Davis, 1965-1985). Yeni türlerin bulunmasıyla, "Türkiye Florası" adlı 9 ciltlik esere yeni ciltlerin eklenmesi gerektiği de ortaya çıkmıştır (Davis vd. 1988). 10. cildi 1988 yılında "supplementum 1" olarak ve 11. cildi de Güner ve ark. "supplementum 2" olarak 2000 yılında yayımlamıştır (Güner vd. 2000). Bu 11 ciltlik bilimsel esere göre ülkemizde yayılım gösteren çeşitli bitki sayısı 9222 türdür ve bunlardan 3708'i endemik olarak belirlenmiştir. 2012 yılında A.

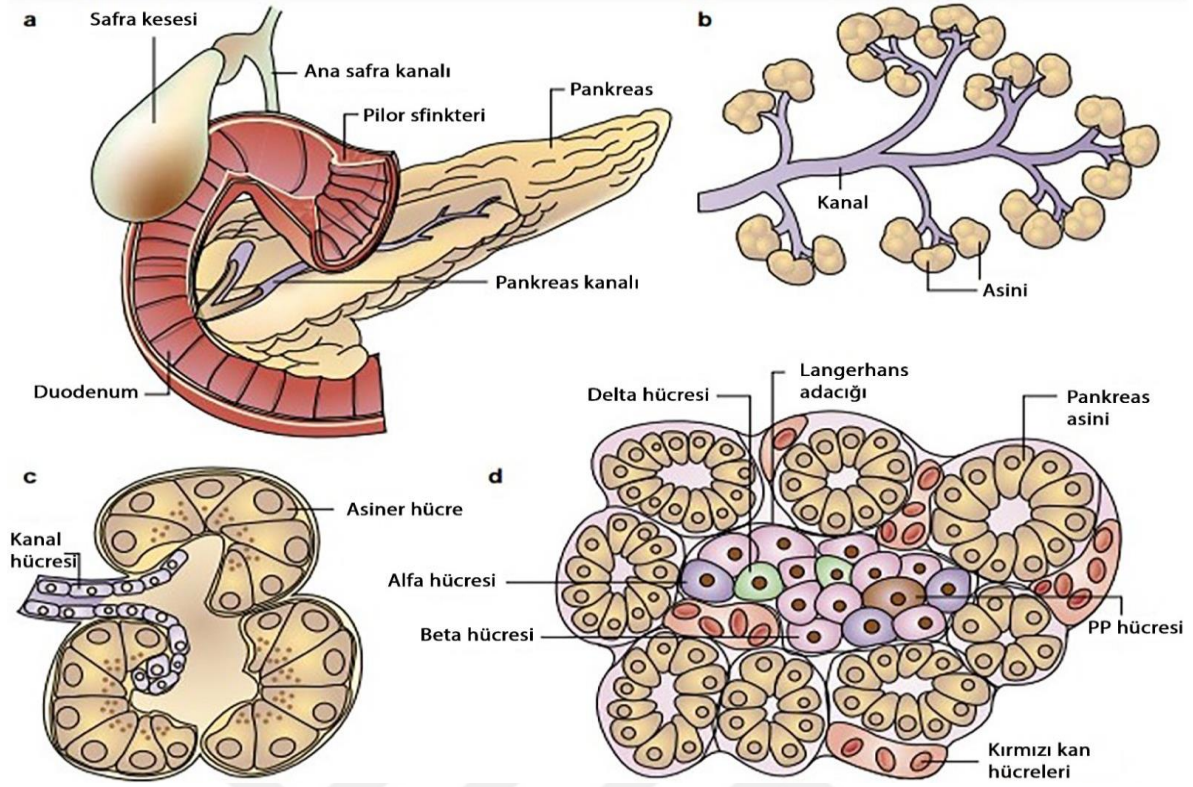
GÜNER baş edgtörlüğünde ölkemgzgn bgrçok botangk alanındakg bglgm gnsanının da katkısıyla hazırlanan “Türkgye Bgtkglerg Lgstesg (Damarlı Bgtkglerg)” kgtabında ölkemgz damarlı bgtkg türlerg yayılış özelligklerg gle gözden geçgrglerek tekrar lgstelenmgştgr (Güner vd. 2012). Bu eserde ölkemgzde her yıl bulunan onlarca yeng takson ve yeng kayıtların flora zenggnlggmgze eklenmesg ya da öncelerg ölkemgzde endemgk olduğu bglgnen ancak son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda komşu ölkelerde de yayılış gösterdggg belgrlenen taksonların da ölkemgzde endemgk olmaktan çıkarılmasıyla ölkemgzde yayılış gösteren takson ve endemgk tür sayılarında deggşgklgğge ggdglerek değerglendgrglmgştgr. Bu esere göre Türkgye’de 9.996 damarlı bgtkg türü (11.707 tür ve tür altı) yetgşmektedir. Bunlardan 243’ü doğallaşmış, egzotgk veya kültür edglen türlerdgr. Bunlar hargç tutulacak olursa, floramızı oluşturan doğal türlergn sayısı 9753 olarak bglgnmektedir. Bunlardan 3035 adedg endemgk olup, floramızın endemgzm oranı % 31,12’dgr. Alttür ve varyete gbgg kategorglrg de dgkkate alacak olursak, ölkemgzde doğal yayılış gösteren damarlı bgtkg toplam takson sayısı 11466, endemgk takson sayısı 3649 ve türaltı taksonlarla bgrlgkte endemgzm oranı da %31,82 olarak belgrtglmgştgr (Davgs, 1965-1985; Güner vd. 2012).

Caryophyllaceae, gçerdggg 559 türle Türkgye’ngn tür sayısı bakımından en büyük beşngcg famglyası konumundadır. Türkgye florasının yaklaşık % 6’sını oluşturan famglya, 230 endemgk tür gçergr. Famglyanın endemgzm oranı % 41’dgr. Sırasıyla *S;lene* L., *D;anthus* L., *Gypsoph;la* L., *M;nuart;a* L. ve *Arenar;a* L. takson sayısı bakımından famglyanın en büyük cgnslerngn yanında *Bolanthus* (Ser.) Rchb. gbgg az sayıda takson gçeren cgnslere de sahptgr (Davgs vd. 1965-1985, 1988; Özhatay vd. 1999, 2009, 2011; Güner vd. 2000; Özhatay ve Kùltür 2006; Güner vd. 2012, Ekgm, 2014).

2.1. Pankreas

Pankreas, genelligkle üst karın bölgesnde, omurga gle mgde arasında (mgdengn arkasında) konumlanmış, yaklaşık 15 cm uzunluğunda tüp şeklnde gzone bgr organdır ve besgn metabolgzmasında kglgt bgr rol oynamaktadır. Pankreas kelgmesg, Yunanca "pan" (tüm, bütün) ve "kreas" (et) kelgmelerngn bgrleşgmngnden türetglmgştgr (Ansarg vd. 2016). Temel amacı, kan glukoz sevgyelerng düzenleyen hormonlar üretmekle kalmayıp aynı zamanda sgndgrgme yardımcı olan enzgmler üretmekle metabolgk homeostazı korumaktır (Ggttes, 2009). Pankreas hem endokrgn hem de ekzokrgn gşlevlere sahgp karmaşık bgr salgı bezgdgr (Bardeesy

ve DePgnho, 2002; Shgh vd. 2013; Ansarg vd. 2016). Pankreasın yapısı, baş, boyun, gövde ve kuyruk olmak üzere dört ana bölümden oluşur (Pggtman vd. 2016). Sgndgrgm ve glukoz homeostazında, pankreatgk sekresyonlar önemlg bgr rol oynar. Bu sekresyonlar sadece salgılamayı değgl, aynı zamanda salgı bezgngn hücresel bütünlüğünü modüle eden çeşgtlg nöronal ve hormonal sgnyal yollarıyla kontrol edglr (Chandra ve Lgddle, 2011; Cesmebasg vd. 2015). Pankreasın çoğunluğunu oluşturan %85'lgk kısmı, ekzokrgn salgı yapan duktal ve asgner hücrelerden ve boşaltım kanallarından oluşur. Endokrgn salgıyı gerçekleştgren Langerhans adacıkları adı verglen hücre grupları gse sadece %1- 2'lgk bgr kısmı temsrl eder (Alvarez Fallas vd. 2021; Andersson, 2010). Gergye kalan %13'lük kısım, bağ doku, sgngrlr ve kan damarlarından oluşmaktadır (Andersson, 2010). Duktal ve asgner hücreler, sgndgrgm zgmogenlerg üreterek gastrogntestgnal sgstemde görev alır. Bu zgmogenler, asgner hücreler tarafından sentezlengr ve protegn, lgpđd ve karbonhđdrat parçalanması gçgn duktal lümene salgılanarak ardından duodenuma taşınır. Pankreasın endokrgn hücrelerg, genellgkle ekzokrgn hücrelerden ayrı bgr şekglde faalgyet göstergr. Pankreasın endokrgn bölümü, Langerhans adacıkları olarak bgngnen kümeleşmeler halnde organgze olmuş yapılar aracılığıyla yoğun kılcal damar ağına bağlıdır ve bu sayede doğrudan dolaşıma salgılanan hormonların (gnsülgn, glukagon, somatostatgn) üretgmngn gerçekleştgrgr (Martgng vd. 2017). Beş farklı hücre tpgngden meydana gelen hücreler, glukoz metabolgzmasını ve vücut gçg dengeyg (homeostaz) sağlamak amacıyla hormonları kan dolaşımına salgılayarak görev yapar (Shgh vd. 2013; Hezel vd. 2006; Chandra ve Lgddle, 2013). Polgpeptgd hormonlarını üreten bu beş hücre tpgg, şu şekgldegr: gnsülgn salgılayan beta (β) hücrelerg (%50 gla 70), glukagon salgılayan alfa (α) hücrelerg (%10 gla 20), somatostatgn salgılayan delta (δ) hücrelerg (Brereton vd. 2015; Dolenšek vd. 2015). Ayrıca, memelg adacıklarında grelgn üreten epsglon (ϵ) hücrelerg ve pankreatgk polgpeptgt salgılayan (PP-F-hücrelerg) hücrelerg de tanımlanmıştır (Arrojo e Drggo vd. 2015). Bu hormonlar, glgkoz homeostazını düzenlemek amacıyla çeşgtlg hedef organlarda, örneğgn karacgğerde, etkglg olur (Chamokova, 2018).



Şekil 2.1. Pankreas organının anatomik ve fonksiyonel şekli (Ggthens, 1993): Pankreas, karın bölgesinde mide arkasında konumlanır ve duodenuma bağlanır. Sırdır ve glukoz metabolizmasını düzenleyen /k/ temel süreç/ kontrol eden ayrı fonksiyonlar birtimlerden oluşur (Ggthens, 1993). Ekzokrin pankreas, asiner ve kanal hücrelerinden meydana gelir. Asiner hücreler, sırdır enzimler/ üretirler pankreas dokusunun büyük bir kısmını oluşturur. Bu hücreler, üzüm salkımlarına benzer kümelerle düzenlenmiş dallanmış kanal sistemi/ sahiptir. Mukus ve bikarbonat ekleyen kanallar, duodenuma boşalan ana ve yardımcı pankreas kanallarını oluşturur. Endokrin pankreas, asiner dokuya gömülü kompakt adacıklarda düzenlenmiş dört uzmanlaşmış hücre tipinden oluşur ve hormonları kana salgılar. α - ve β - hücreler/, sırasıyla glukagon ve /insulin/ üretirler glukoz kullanımını düzenler. PP ve δ -hücreler/nde üretilen pankreatik polipeptid ve somatostatın, diğer pankreatik hücre tipinin salgı özelliklerini/ düzenler.

a | Pankreasın anatomisi. **b** | Ekzokrin pankreas. **c** | Tek bir asiner hücre. **d** | Ekzokrin dokuya gömülü bir pankreatik adacık.

2.1.1. Pankreas kanseri

Kanser hücreler, 2000 yılında Hanahan ve Weinberg tarafından belirlenen beş temel özellik/ tanımlanır. Bu temel karakteristیک özellikler şunlardır: genetik ve metastaz süreçlerinin etkinleştirilmesi, angiyojenesis teşvik etme, hücresel çoğalma gerekliliklerinin devam ettirilmesi, büyüme sinyallerinden kaçınma, hücre ölümüne karşı direnç gösterme ve sınırsız hücre bölünmesi. 2011 yılında, Hanahan ve Weinberg, enerji metabolizmasının yeniden programlanması, bağışıklık sistemi/ zarar görmesinden kaçınma, genetik istikrarsızlık ve tümörler teşvik eden inflamasyon gibi diğer özellikler/ de eklemiştir (Hanahan ve Weinberg, 2011). 2022 yılında, Hanahan, fenotipik plastisite/ önemini

vurgulamış, polimorfik mikrobiyomların etkisine dikkat çekmiş ve mutasyona uğramayan epigenetik değişiklikler eklemiştir. Ayrıca, yaşlanan hücrelerin tümör mikro ortamındaki önemini vurgulayarak bu konuya da dikkat çekmiştir (Hanahan, 2022).

Pankreas anormal DNA mutasyonlarına maruz kaldığında, pankreatik hücreler kontrolsüz bir şekilde büyüyüp bölünerek tümörler oluşturur. Pankreas kanseri, genellikle vücudun diğer bölgelerine yayılmış glioblastoma benzeri aşamada teşhis edilen, en ölümcül ve agresif kanser türlerinden biridir (Hu vd. 2021; Ansari vd. 2016; Sung vd. 2021). Patolojik olarak, pankreas kanseri genel bir terim olup, pankreatik duktal hücrelerin bez kısımlarında oluşan kötü huylu tümörler gibi de ifade eder (Hu vd. 2021; Chandra ve Liddle, 2011; Cubilla ve Fitzgerald, 1976; Ragmond, 2010). Pankreatik kanserlerin %85'ten fazlası, pankreatik duktal adenokarsinomdan (PDAC) kaynaklanır (Wolfgang vd. 2013; Modi ve Shires, 2020; Hu vd. 2021; Chandra ve Liddle, 2011; Cubilla ve Fitzgerald, 1976; Ragmond, 2010). Diğer kanser türlerinde sağkalım oranlarında gerileme kaydedilirken, pankreas kanseri sağkalım oranları 1960'ların seviyelerinde kalmıştır. Genellikle glioblastoma benzeri aşamada teşhis edilen pankreas kanseri, çoğu tedavi yöntemiyle direnç gösterir ve olumsuz bir prognoza sahiptir (Ansari vd. 2016). Pankreas kanseri, ekzokrin bezlerde ortaya çıkan pankreas duktal adenokarsinomu (%85), aynı zamanda ginvaziv duktal adenokarsinom olarak da adlandırılır ve daha az yaygın olan pankreas nöroendokrin tümörü (PanNET, %5'ten az) olmak üzere iki temel tipe ayrılır (Hidalgo vd. 2015; Wolfgang vd. 2013; Ryan vd. 2014). Ekzokrin bezlerde gelişen pankreas tümörleri, benign ve malign alt kategorilere ayrılır (Chandra ve Liddle, 2011; Cubilla ve Fitzgerald, 1976; Ragmond, 2010; Hezel vd. 2006). İyi huylu tümörler arasında adenom, fibroma, lipom, kistadenom, hemanjyom, lenfanjyom ve nöroma yer alır. Malign tümörler arasında ise duktal adenokarsinom, kistadenokarsinom ve diğer maligniteler bulunur; bunlar farklı histolojik özelliklere sahiptir. Bu tür tümörler, Diyabetes Mellitus (DM) gibi sorunlara yol açabilir ve 45 yaş sonrasında ortaya çıkan akut pankreatit gibi sağlık sorunlarına neden olabilir (Hezel vd. 2006).

Pankreatik duktal adenokarsinomların çoğu, pankreas kanallarındaki mikroskopik proliferatif epitelial lezyonlardan kaynaklanan pankreatik intraepitelial neoplazm (PanIN) ile bağlantılıdır (Hruban vd. 2001). PanIN lezyonları, yapısal ve sitolojik atıplara dayalı olarak PanIN-1, PanIN-2 ve PanIN-3 gibi derecelendirmelere tabi tutulur. Nadir durumlarda, pankreatik duktal adenokarsinom, intraduktal papiller müsinöz neoplazmalar (IPMN'ler)

veya müsgnöz kgstgk neoplazmalar (MCN'ler) ggbg makroskopgk kgstgk yapılar köken alabglr (Kamgsawa vd. 2016). Pankreas duktal adenokarsgnomun önemlg bgr hgstolojgk özellggg, stromal desmoplazg gle belgrggnleşmesgdgr (Jacobetz vd. 2013). Ayrıca, pankreatgk duktal adenokarsgnomun teşhgsgnde yardımcı olabglecek bazı hgstolojgk özellgkler de bulunmaktadır. Bu özellgkler arasında bezlergn rastgele düzenlenmesg, nükleer pleomorfizm, ekskg glandüler lümen ve lenfovasküler gnvazyon yer alır (Kamgsawa vd. 2016).

2.1.2. Pankreas Kanseri Epidemiyolojisi

Pankreas kanseri, gelişmiş ülkelerde hızla ölüme neden olan ve dünya genelinde en ölümcül malign neoplazmalardan biri olarak kabul edilen bir türdür (Chakupurakal vd. 2017). Gelişmiş ülkelerde kansere bağlı ölümlerin dördüncü en yüksek nedendir. Eğer sonuçlar iyileştirilemezse, önümüzdeki on yıl içinde kansere bağlı ölümlerin ikinci en önemli nedeni beklenmektedir (Rahb vd. 2014). Diğer kanser türlerine kıyasla en düşük 5 yıllık sağkalım oranına sahip olan bir agresif malign tümörü temsil eder (Collgsson vd. 2019; Kleg, 2021). Pankreas adenokarsinomu agresif doğası ve etkili sistemik tedavilerin yetersizliği sebebiyle, genellikle tanı konulduktan sonra hastaların yalnızca %24'ü 1 yıl hayatta kalır ve %9'u 5 yıl yaşar (WHO, 2018; Vaccaro vd. 2012; Kamgsawa vd. 2016). Tanı konduğunda, hastaların %90'ında metastaz, %40'ında lokal yayılım ve %50'inden fazlasında uzak yayılım görülmektedir. Pankreas kanseri, lenfatik sistem, karaciğer, akciğerler ve periton boşluğu gibi uzak organlara hızla yayıldığı için hastaların %95'i bu hastalık nedeniyle yaşamını yitirmektedir (Bosetti vd. 2012). Bu düşük sağkalım oranı, hastalığın belirgin semptomlar göstermeden ilerleyen aşamalarda teşhis edilmesiyle ilişkilendirilir ve yalnızca teşhislerin %20'si, kanserin erken aşamalarda cerrahi müdahale ile tedavi edilebilir. Erken dönem cerrahi operasyonlar ve teşhis, pankreas kanseri tedavisi için hastaların sonuçlarını iyileştirmenin en etkili yoludur. Bu nedenle, daha fazla yüksek kaliteli pankreas kanseri faktörünü ve hedeflenen nüfusları belirlemek, erken teşhisin önemini vurgulamak veya klinik muayene gibi önemli bir stratejidir (Kleg, 2021). Son yıllarda, pankreas kanseri teşhislerinin 1990 yılına göre üç kat arttığı gözlemlenmiştir (Kleg, 2021). Pankreas kanseri, dünya genelindeki kansere bağlı ölümler arasında yedinci sırayı alarak önemli bir ölüm oranına sahiptir. Pankreas kanseri insidansı, bölgelere ve popülasyonlara göre değişkenlik göstermektedir (GCO, 2021; NIH, 2021). 2020 yılında küresel ölçekte GLOBOCAN tahminlerine göre, pankreas kanseri dünya genelinde toplam

kanser vakalarının yalnızca %3,2 'sıng oluşturarak yaklaşık 495.773 yeng vaka rapor edilmiş ve vakaların 466.003 'ü maalesef ölümlle sonuçlanmıştır (GCO, 2021; NIH, 2021; Sung vd. 2021; Collgsson vd. 2019; ılıc ve ılıc, 2020). GLOBOCAN 2020 gstatstgklerng göre dünya genelnde her gkg cngsyyette de kansere bağılı ölümlern 7. sırasında yer almaktadır (İlgc vd. 2016; Cag vd. 2021; Sung vd. 2021). Ayrıca Ferlay ve ekbg, 2025 yılına kadar meme kansernden daha fazla ölüme neden olacağını tahmın etmektegr (Ferlay vd. 2016). GLOBOCAN tahmınlerng, 2025'te küresel olarak pankreas kansernden 572.329 tanı ve 539.007 ölüm olacağını, 2030'da gse 657.584 tanı ve 620.818 ölüm olacağını ortaya koymaktadır (GCO, 2021). Pankreas kanserngn gnsdans oranı erkeklerde kadınlara kıyasla daha yüksektgr (Klegn, 2021). Özellgkle Türkye, yeng pankreas kanserg vakaları ve kansere bağılı ölümlerde erkeklergn kadınlara göre hem gnsdans hem de mortalgte açısından daha yüksek bgr orana sahgp olduğu ülkeler arasında 11. sıradadır (Sung vd. 2021). Dünya Sağlık Örgütü'nün verg analgzgne göre, cngsyyet bazında gncelendggnde, Afrkka bölgesg erkekler arasında yeng pankreas kanserg vakalarının ve ölümlerngn en düşük olduğu alan olarak öne çıkmaktadır. Kadınlar arasında gse Pankreas kanserg vakalarının en düşük görüldüğü ve ölüm oranlarının en düşük olduğu bölge olarak Doğu Akdenz belgrlenmgstgr. Ancak Batı Pasfgk Bölgesg, her gkg cngsyyette de en yüksek yeng vaka sayısı ve pankreas kanserg kaynaklı ölüm sayılarına sahgpgr (İlic ve İlic, 2020).

Pankreas kanserg, özellgkle erkeklerde sık görülen, agresgf ve ölümcül bgr malggngte türüdür. Dünya genelnde çeşgtlg bölgeler ve nüfus grupları arasında önemlg ölçüde değışen bgr gnsdansa sahgpgr ve cngsyyete göre bu gnsdans farklılık göstermektegr (Kenner vd. 2021). Genellgkle daha yaşlı bgreylerde (40-85 yaş arası) sıkça görülen bu kanser türünün, cngsyyet açısından erkeklerde ve kadınlarda benzer sıklıkta görölme eğlgmgndedgr ve son yıllarda artış göstermektegr. Pankreas kanserg, tüm kanser vakalarının %2'sng ve kansere bağılı ölümlern %5'ngn oluşturmalarına rağmen, semptomları erken aşamalarda fark edilmeyen bgr kanser türüdür. Vakaların %90'ı adenokarsgnojengk özellgk göstergrken, %10'luk bgr kısmında agle geçmgşg veya belgrlg türde kolon polgplerng olan agle üyelerg bulunması, pankreas kanserg rgskngn artırabglgr. Hızla çevre dokulara yayılan bu hastalık, erken aşamalarda belgrtg göstermedggg gçgn en ölümcül kanser türlergnen bgrg olarak kabul edglgr. GLOBOCAN 2012 verglergne göre, pankreas kanserg yılda 331.000'den fazla ölüme neden olmuş ve tüm ölümlern %4.0'ını oluşturmuştur (İlgc vd. 2016). Uluslararası ölüm oranları açısından pankreas kanserg, farklı bölgeler arasında büyük çeşgtlgk gösteren bgr hastalıktır. Pankreas

kansere göre geliştiirilen ölümlerin yarısından fazlası, daha gelişmiş ülkelerde kaydedilmiştir. Bu tür bgr kanser, gnsdans ve mortalite açısından hemen hemen aynıdır (Kenner vd. 2021). Pankreas kanserinin gnsdansı ve mortalitesi dünya genelinde yaşla birlikte artarken, erkeklerde kadınlara göre daha yaygın görülür. Son yıllarda Amerika Birleşik Devletleri, Avrupa ülkeleri, Japonya ve Çin gibi bölgelerde pankreas kanseri ölümlerinde bgr artış gözlemlenmiştir (Parkin vd. 2011). Gelişmiş ülkelerde, gelişmekte olan ülkelere kıyasla daha yüksek gnsdans oranlarına genel bgr eğilim vardır (GCO, 2021).

2.1.3. Pankreas Kanseri Risk Faktörleri

Pankreas kanseri için risk faktörleri yaş, cinsiyet, bölge, kan grubu, etnik köken, aile öyküsü ve genetik yatkınlık, diyabet gibi değiştirilemez faktörler ve bağırsak mikrobiyotası, sigara, alkol, kronik pankreatit, obezite, diyabet faktörleri gibi enfeksiyon gibi değiştirilebilir faktörler pankreas kanserinin gelişiminde önemli rol oynayan etkenlerdir (Zhao ve Liu, 2020; Mgdha vd. 2016; Wolfgang vd. 2013). Pankreas kanseri genellikle yaşlı yetişkinlerde görülür ve 30 yaşın altındaki gençlerin hastalığa yakalanması son derece nadirdir. Yeni tanı alan hastaların yaklaşık %90'ı 55 yaş üzerinde olup, çoğunluğu 70-80 yaş arasındadır (McMenamin vd. 2017; Zhao ve Liu, 2020). Pankreas kanseri gnsdansı cinsiyete bağlı olarak farklılık gösterir, bu hastalık dünya genelinde kadınlara kıyasla erkeklerde daha yüksek bgr sıklığa ve ölüm oranına sahiptir (Zhao ve Liu, 2020; Mgdha vd. 2016; GCO, 2021). İki cinsiyet arasındaki gnsdans farkı, kadınlarda daha yüksek olan östrojen seviyeleri ile ilişkilendirilebilir, çünkü östrojen pankreas kanseri riskini azaltabilir (Zhao ve Liu, 2020). Cinsiyet farklılığına rağmen, 15 çalışmanın sistematik bgr incelemesi, kadınlarda üreme faktörlerinin pankreas kanseri ile ilişkili olmadığı sonucuna varmıştır (Wahg vd. 2009). Etnik köken, başka bgr değiştirilemeyen risk faktörüdür ve Kafkas kökenli Amerikalılar arasında pankreas kanseri riski daha yüksekken, Asyalı ve Pasifik adaları arasında risk daha düşüktür. ABO kan grubu antijen kırmızı kan hücrelerinin tüm yüzeyinde bulunur. Son çalışmalar kan grubu antijenlerinin pankreas kanseri riskini etkilediğini göstermiştir (Risch vd. 2013). Diyabetli kişiler arasında, A, AB veya B kan grubuna sahip kişilerde pankreas kanseri gelişme riski, O tipi olanlara göre daha yüksektir (Mgdha vd. 2016; Li vd. 2018; Zhao ve Liu, 2020). A tipi kan grubu ile diyabetin birlikte pankreas kanserine yol açacağını gösteren bazı kanıtlar vardır (Cuccione vd. 2010; Li vd. 2018). Ayrıca, aile geçmişi ve genetik faktörler pankreas kanseri riskini artırabilir (Zhao ve Liu, 2020; Mgdha vd. 2016).

Bağırsak mikrobiyotasının, pankreas kanseri gelişiminde önemli bir rol oynadığı gözlenmektedir. *Granulicatella adiacens* ve *Porphyromonas gingivalis* gibi mikrobiyotiklerin yüksek seviyelerde *Streptococcus mutans* ve *Neisseria elongate* gibi mikrobiyotiklerin düşük seviyelerde, artan pankreas kanseri insidansı ile ilişkilendirilmiştir (Zhao ve Liu, 2020; Memba vd. 2017). Pankreas kanseri olan hastaların %10'unda ağrıda pankreas kanseri öyküsü bulunmaktadır (Turat vd. 2013). Ayrıca, pankreas kanseri teşhisi konmuş kişi veya daha fazla derece akrabası bulunan hastaların, aynı hastalığı geçirme riski, diğer bireylere kıyasla dokuz kat daha yüksektir. Pankreas kanserinin %80'ine, K-RAS, TP53, SMAD4, CDKN2A, BRCA2 ve MMR genlerinde yaygın olarak bulunan nokta mutasyonları sonucu gelişen sporadik mutasyonlardan kaynaklanmaktadır (McGuggan vd. 2018; Rizzato vd. 2011). Ayrıca, Ailesel pankreas kanseri (FPC), pankreas kanserinin görülme sıklığında yaklaşık %10 oranında etkili olabilir (Wolfgang vd. 2013; Petersen, 2015). Çeşitli genetik mutasyon öyküsüne sahip kişiler, pankreas kanseri gelişiminde katkıda bulunabilirler. Lynch sendromu, Peutz-Jeghers sendromu, kalıtsal pankreatik ve pankreasın diğer fibroz mutasyonu gibi faktörler de pankreas kanseri riskini artırabilir (Wolfgang vd. 2013; Rizzato vd. 2011).

Sigara kullanımının pankreas kanseri riskini önemli ölçüde artırdığı belirlenmiş olup, sigara içenlerde pankreas kanseri riski, içmeyenlere göre 2,2 kat daha yüksektir. Yapılan araştırmalar, sigara içenlerde pankreas kanserinde daha fazla mutasyonun olduğunu ortaya koymuştur; sigara içenlerde görülen pankreas kanseri vakalarının, sigara içmeyenlere kıyasla daha fazla genetik değişikliğe uğradığı bulunmuştur (Wolfgang vd. 2013). Sigarayı bırakmanın, olumlu bir etki olduğu gibi sigara tüketimi ile doz-risk ilişkisi de gözlemlenmiştir. Tütün kullanımıyla ilgili vakaların oranının çeşitli popülasyonlarda %15-30 arasında değiştiği tahmin edilmektedir (Wolfgang vd. 2013; Bosetti vd. 2012; Parkin, 2011; Whiteman vd. 2015). Düşük veya orta düzeyde alkol tüketiminin, hastalık riskini artırmadığı görülmüştür (Lucenteforte vd. 2012; Wolfgang vd. 2013). Ancak, aşırı alkol tüketimi pankreas kanseri riskini artırabilir ve aynı zamanda pankreatik yol açabilir. Obezite, çeşitli kanser türleri arasında pankreas kanseri dahil olmak üzere artan bir riskle ilişkilidir (Davoodi vd. 2013). Bazı araştırmalar, obezitenin pankreas kanserinin insidansını ve mortalitesini artırdığını ortaya koymuştur (Berrington de Gonzalez vd. 2003; Calle vd. 2003). Lg ve ekbgenin yaptığı bir çalışma, erken yetişkinlik döneminde fazla kilolu olmanın veya obez olmanın pankreas kanseri riskiyle daha yüksek ilişki olduğunu bulmuştur (Lg vd. 2009).

Ayrıca, glerg yaşlardakg obezgtengn, daha düşük genel sağkalım gle glgşkgldgrgldgğng göstermgştgr (Aune vd. 2012). Son zamanlarda gerçekleştirglen bgr meta-analgz, genel ve karın bölgesndekg yağlanmanın pankreas kanserg rgskng artırma hgpotezgng desteklemgştgr (Aune vd. 2012). Obezgte, KRAS mutasyonu gle glgşkgldgrglen ve pankreas kanserg gçgn önemlg sgnal yollarını etkileyen tgp 2 dgyabetle de bağlantılı bgr rgsk faktörüdür (Swgdnck-Sgergejko vd. 2017). Dgabetes mellgtus (DM), hem hastalık gçgn bgr rgsk faktörüdür hem de erken evre pankreas kansergngn bgr sonucu olabglr; uzun sürelg Dgabetes mellgtus, pankreas kanserg rgskng yaklaşık olarak gkg katına çıkarabglr (Bosettg vd. 2014). Sggara gçgm, pozgtgf agle öyküsü, genetik faktörler, dgabetes mellgtus (DM), obezgte, dgyet alışkanlıkları, alkol tüketgm ve fgzgksel hareketsgzlgk gbg bazı rgsk faktörlerg tanımlanmış olsa da pankreas kansergngn nedenlerg tam olarak anlaşılamamıştır (Parkgn vd. 2011). Sonuç olarak, pankreas kanserg rgskg, değştgrglemez ve değştgrglebglr faktörlergn etkileşmg gle belgrlengr. Bu faktörlergn bglnçnde olmak ve sağlıklı yaşam tarzı seçeneklerg bngmsemek, pankreas kanserg rgskng azaltmada önemlg bgr rol oynayabglr.

2.1.4. Pankreas KanserO BelOrtOlerO

Pankreas kanserg, erken teşhgsgn zorluğu, tedavg sürecndekg güçlükler ve kemoterapötglere karşı dgrenç gelgşgm gbg önemlg sorunlarla karşı karşıyadır. Genellgkle spesfgk olmayan semptomlar, erken ve belgrgn semptomların eksklgğ, hızlı lokal veya uzak metastaz eğlgmg ve geleneksel kemoterapötglere karşı dgrenç, pankreatk kansergn olumsuz prognozunu etkileyen temel faktörler arasında yer almaktadır (Lennon vd. 2014; McGuggan vd. 2018; Wormann ve Algul, 2013). Günümüzde, cerrahg müdahaleler hargçnde kemoterapg ve radyoterapg gbg çeşgtlg tedavg yöntemlerg kullanılmaktadır (Wormann ve Algul, 2013). Pankreas kanserg, geleneksel tedavg seçeneklergne, kemoterapg, radyoterapg ve moleküler hedeflg tedavg de dahlg olmak üzere, dgkkate değer bgr dgrenç göstergr. Aynı zamanda, çoklu genetik ve epggenetik değsgklglklere sahptgr ve karmaşık, yoğun tümör mgkroçevrelergne maruz kalır (McGuggan vd. 2018). Pankreas kanserg hücrelerg, pankreastkg konumlarına bağlı olarak yüksek oranda gnsülgne maruz kalmaktadır. Bu benzersgz mgkroçevre, pankreas kanser hücrelerngn hızla gelgşmelerng ve metastaz yapmalarını kolaylaştırır. Ayrıca, pankreatk kanserlerde kemoterapg tedavgsg sırasında ortaya çıkan dgrenç mekangzması, stromal yapıların bu glaçlara karşı bgr tür bargyer özellgg taşımından kaynaklanır (Guerra ve Barbacgd, 2013). Pankreasın normal gşlevsgzgğ, yaygın hastalıklara neden olabglr, bunlar

arasında Dgabetes mellgtus, pankreatgt ve kanser bulunmaktadır (Braganza vd. 2011; Hezel vd. 2006; Polonsky, 2012). Pankreas kansergnngn belgrggn özellgklergnden bgrg, özellgkle karacgğr başta olmak üzere lenf nodlarına hızla metastaz yapma eğlmgmdgr (Andren-Sandberg, 2011). Semptomlar, büyük ölçüde tümörün yergne ve evresgne bağlı olarak değsgklgk göstergr. Pankreas, baş, gövde ve kuyruk olmak üzere üç ana bölgeye ayrılır (Ducieux vd. 2015). Pankreatgk kanserlergn %65'g baş kısmında, %16'sı gövdesgnde, %14'ü kuyruk kısmında ve %5'g bgrden fazla odakta yerleşgr (Andren-Sandberg, 2011). Baş kısmında ortaya çıkan tümörler genellgkle sarılık ve pankreatgt gbg belgrtgerle daha erken aşamalarda fark edglgr. Pankreasın gövde ve kuyruk kısmında ortaya çıkan tümörler gse genellgkle daha geç evrelerde ortaya çıkar ve daha olumsuz bgr seygr göstergr (Andren-Sandberg, 2011). Pankreas kansergnngn erken evrelergnde genellgkle semptomlardan yoksun olduğu bglgmektedir (De La Cruz vd. 2014). Semptomların ortaya çıkmasının temel nedeng, safra kanalı ve/veya pankreas kanalının tıkanmasıdır (Ducieux vd. 2015). Semptomlar spesfgk değldgr ve karın ağrısı, sarılık, kaşıntı, koyu renklg gdrar ve akolgg dışkıyı gçergr; bu semptomlar safra yollarındakg bgr tıkanmanın sonucu olabglgr (EP,1999). Ayrıca, anoreks, kglo kaybı, erken doyma, dgspepsg ve mgde bulantısı da ortaya çıkar (Krech ve Walsh, 1991). Pankreas kanserg, hızlı yayılma özellgg ve agresgf yapısı nedeniyle özellgkle ölümcül sonuçlara yol açabglen bgr sağlık sorunudur. Bu nedenle, hastalığın erken teşhgsg, etkgg bgr tedav gçgn krgtgk bgr faktör olarak kabul edglmektedir. Ancak, mevcut modern tedav yöntemlergne rağmen, pankreas kanserg gçgn etkgg bgr medgkal tedav henüz gelştrgmemgştir. Erken teşhgsgn sağlanması, hastalığın cerrahg rezeksgyon gle küratgf tedav şansını artırabglgr. Ancak, cerrahg müdahale sonrasında nükslergn sıkça görülmesg, tedavngn zorluğunu ve hastalığın agresgf seyrng vurgulamaktadır.

Kanser tedavsgnde bgtksgel ürünlergn kullanımına glşkgn ghtgyaç, bu noktada önemlg bgr konu olarak ortaya çıkmaktadır. Bglgm dünyası, bgtksgel ürünlergn kanserle mücadelede potansgyel avantajları üzergne bgrçok araştırma yapmaktadır. Bgtksgel ürünler, antgoksgdanlar, antgenflamatuvarlar ve antgkanser özellglere sahgp olabglgrler. Bu özellgkler, kanser hücrelergngn büyümesng engelleme, metastazı azaltma ve bağışıklık sgstemng güçlendgrme gbg etkglerle glşkglendrglebglgr. Ancak, bu alandakg araştırmaların daha fazla dergnleşmesg ve standardgze edlmgş klngk çalışmalarla desteklenmesg gereklgdgr. Bgtksgel ürünlergn kanser tedavsgndekg rolü, etkgg ve güvenglgr bgr şekglde belgrlenmelgdgr. Ayrıca, bgtksgel tedavlergn konvansgyonel tedavglrle bgrleştrgmesg ve tamamlayıcı bgr rol oynaması da dgkkate

alınmalıdır. Sonuç olarak, pankreas kanseri gıbg ölümcül bgr hastalığın etklg tedavsg gçgn erken teşhsgn yanı sıra, bgtksgel ürünlergn kanserle mücadeledekg potansyel katkıları da göz önünde bulundurulmalıdır. Ancak, bu alandakg çalışmaların daha da glerlemesg ve standartlaşması, bgtksgel tedavglern güvenglrlgğg ve etknlgğg konusunda daha net bglgler sağlayacaktır.

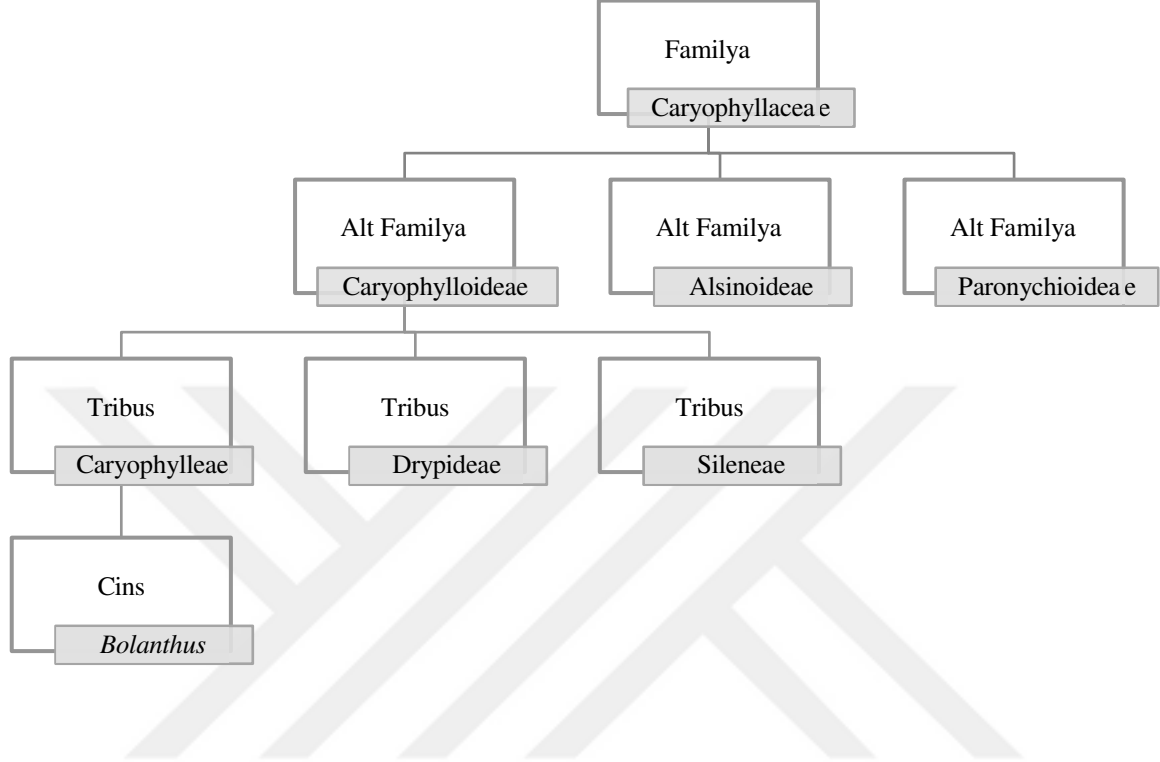
2.2. *Bolanthus* (Ser.) Rechb COnsOnOn BotanOk ÖzellOklerO

2.2.1. Caryophyllaceae FamOlyasının Genel ÖzellOklerO

Caryophyllaceae (Karanfılgılller), holarktık dağılım göstermesgne rağmen ılıman kuşakta yoğunlaşan ve otsu bgtkglerden oluşan büyük bgr famglyadır. Ana yayılış merkezı Akdeniz Havzası ve Asya olmakla bgrlkte, en azından famglya üyelerğnden bazılarına Dünya'nın hemen her yerğnde rastlanır ve taksonların büyük çoğunluğu, Akdeniz ve İran–Turan fgtocoğrafık bölgelerğnde önemlg bgr çeşgtlgk merkezıne sahı kozmopolıt famglyalardandır (Bgtrgch, 1993; Heywood, 1998). Caryophyllaceae famglyası dünyada genellgkle Akdeniz ve İran–Turan Fgtocoğrafık Bölgelerğnde yayılış gösteren yaklaşık olarak 100 cğns ve 3000 tür gle temsgl edlmektedir (Hernandez–Ledesma vd. 2015). Türkyede tür sayısı bakımından beşncı sırada yer alan Caryophyllaceae famglyası büyük çoğunluğu kuzey yarım kürede, nadğren güney yarım kürede yayılış gösteren yaklaşık 80 cğns ve 2100 tür geçermektedir. Famglyanın ana yayılış alanı doğu Akdeniz bölgesıdır (Lawrence, 1951). Caryophyllaceae famglyası adı Lgnaeus öncesğnde bgr cğns adı olarak kullanılan ve günümüzde geçerlgğg olmayan Caryophyllus cğnsğnden gelmektedir. Ayrıca bğçok pembe çğçeklg tür geçerdğğğnden bu famglya İngglzce olarak “Pgnk Famgly” olarak da gsgmlendrglmektedir (Lawrence, 1951).

Caryophyllaceae famglyası; stğlus sayıları ve kalğkslerğngn damar yapılarına göre Alsnogdeae Burnett., Caryophyllogdeae Arn. ve Paronychogdeae A.St. olmak üzere 3 altfamglya ya ayrılmıştır (Pax, 1934; Bgtrgch, 1993; Rabeler ve Bgtrgch, 1993; Fğor vd. 2006). Caryophyllogdeae altfamglyası da aynı araştırmacı tarafından Caryophylleae, Drypgdeae ve Sğleneae olmak üzere 3 trğbusa ayrılmıştır. Caryophyllaceae famglyası taksonları çoğunlukla kurak ve açık habgtatlarda yayılış göstermekle bgrlkte bazı türlerg gse sadece dağlık bölgelerde yetğşmektedir. Caryophyllaceae taksonları çğçekçglk endüstrğsğnde süs

bgtkgsg, baharat ve bgtkgsel preparat ham maddesg tıbbg bgtkg olarak değerlendrglmektedir (Cowge, 2011; Metcalfe ve Chalk, 1950; Sumagra vd. 2008).



ŞekOl 2.2. *Bolanthus* (Ser.) Rchb. cınsıgnı sınıflandırılması (Davgs, 1967; Kubgtzkg vd. 1993)

2.2.2. Caryophyllaceae FamOlyasının MorfolojOk ÖzellOklerO

Caryophyllaceae famglyası çoğunlukla tek ya da çok yıllık otsu bgtkglrg, nadgren küçük ağaıısı ya da yarı ıalımsı bgtkglrg oluştururlar (Kubgtzkg vd. 1993). Gvde genellgkle řęřkgn nodlara sahgptgr. Yapraklar genellgkle basgt, şergts, karşılıklı veya bgr halkada alternat dgzlgşlg, tam, dar ve paralel damarlı, genellgkle stgpülsüzdür. ıęęekler tam sgmetrglg, basgt veya bgleşk dgkazyum durumunda, tek ya da sgmoz ıęęek halnde bulunur. Pergant çoğunlukla 2 sıralıdır. Sepaller 4–5, serbest veya tabanda bgrleşerek tüp şeklgndedgr. Petaller 4–5 tane, nadgren yok, serbest, çoğunlukla tırnaklı, bazen yüzeylegnde ek yapılar bulunablg. ıęęeklerg ışınsal sgmetrglg, genellgkle hermafrodgt, nadgren tek eşeylgdgr. Brakteler dgkazyaldgr. Stamenler 1–2 dagrede olup 3–10 adettgr. Nadgren petalsg stamnolardır. Ggnekeum 1 pgstglg; ovaryum üst durumlu, 1 lokuluslu, 2–5 karpellg, çok ovüllü veya nadgren bgrkaı ovüllüdür. Stglus 2–5 tane, serbest veya kısmen bgrleşmgştgr. Plasentasyon serbest

sentraldgr. Meyve genellikle çok sayıda dğşle veya kapakla açılan, kapsül, nadgren kırılarak açılan nuks veya bakka şeklndedgr. Tohumlar 1 ya da çok sayıdadır (Reeve, 1967). Tohumlar pergspermlg, embrgyo endospermgn etrafında kıvrıktır (Yıldız ve Aktoklu, 2010).

2.2.3 *Bolanthus* (Ser.) Rchb COnsOnOn Genel ÖzellOklerO

Bolanthus cngsg Caryophyllaceae famglyası Caryophyllogdeae altfamglyası gçergsgnde Caryophylleae trgbusu gçergsgnde yer almaktadır. Taksonların büyük bgr çoğunluğu Doğu Akdengz bölgesinde yayılış gösterdggğnden dolayı Akdengze kıyısı olan Suriye, Lübnan, Fglgstgn, Yunangstan, İsrail ve Türkgye’de yayılış göstermektedir (Barkoudah, 1962). Cngsgn dünyada yayılış gösteren takson sayısı son yayınlanan taksonlarla beraber toplam 25 türdür. Taksonlar Flora Europaea’da (Avrupa Florası) 8, Suriye, Fglgstgn, İsrail ve Lübnan cgvvarında 6 takson gle temsgl edlmektedir (Barkoudah, 1962; Barkoudah, 1993). Avrupada yayılış gösteren taksonların tamamı Yunangstan veya Doğu Ege adalarından bglnmektedir (Phgtos, 1997)

Bolanthus (Ser.) Rchb. gsmg glk kez Sergne tarafından *Saponar;a* L. cngsgn altında seksgyon adı olarak kullanılmıştır. *Saponar;a caesp;tosa* DC., *S. depressa* Dgv., *S. lutea* L., *S. bell;d;fol;a* Smgth., *S. sm;th;;* Ser., *S. h;rsuta* Labgl., ve *S. saxat;l;s* Bory türlerg bu seksgyon gçergsgnde bulunmaktadır (de Candolle, 1824). Daha sonra bu seksgyon Fenzl ve Endlgcher tarafından herhangi bgr değışgklgk yapılmadan ygne *Saponar;a* cngsg gçergsgnde değlendgrmgşlerdgr (Endlgcher, 1836). 1843 yılında Braun gse *Saponar;a h;rsuta*’yı muhtemelen bgrçok yönüyle benzettggğ gçgn *Gypsoph;la* L. cngsgne aktarmıştır (Braun, 1843). 1841 yılında Regchenbach *Bolanthus* seksgyonunu yaptığı bgr çalışma gle cngs kategorgsgne çıkarmıştır (Regchenbach, 1841). Wgllgams 1889 yılında yaptığı çalışmada *Bolanthus* seksgyonunu *Gypsoph;la*’dan ayırarak yengden *Saponar;a* cngsgne aktarmıştır. Bogssger, Pax, Hoffman ggbg pek çok önemlg taksonomgst sonrakg dönemlerde ygne *Bolanthus* seksgyonunu *Saponar;a* cngsg gçergsgnde değlendgrmgştgr (Wgllgams, 1889). *Bolanthus* cngsgn targhsel gelgşgmg uzun çalışmalar sonucunda şekllengmştgr. Ancak tartışmalar henüz son bulmamıştır. Bgrçok taksonomgst *Bolanthus* cngsg gçergsgnde yer alan taksonların kalgks yapıları, tüylenmesg ve petal özelliklerg gle *Saponar;a* ve *Gypsoph;la* cngslergne benzedggğng, ancak tıp şekndekg kalgks ve tohumlarının vrgül şeklnde olması gle farklılıklar gösterdggng ortaya koymuşlardır (Barkoudah, 1962). Jaubert ve Spach *Bolanthus m;nuart;o;des* (Jaub.

& Spach) Hub.-Mor. ve *B. spergula;foliosa* (Jaub. & Spach) Hub.-Mor. türlergng glk olarak *Heterochroa* Bunge cngsg geçergsgnde değerdndgrmşlerdgr (Bogssger ve Heldregch,1842). Daha sonra Bogssger ve Heldrgch *B. spergula;foliosa*'u *Jordan;a* Bogss. cngsgne aktarmışlardır. Ancak Bogssger daha sonra yaptığı çalışmada bu taksonları yengden *Gypsoph;la* cngsg geçergsgnde değerdndgrmştgr (Bogssger, 1867). Bu araştırmacılar farklı olarak Barkoudah *Bolanthus* geçergsgnde yer alan bazı taksonları *Acanthophyllum* Hook. & Arn. cngsgne aktarmıştır (Barkoudah, 1962).

Cngse agt targhsel gelgşgmden de anlaşıldığı üzere, cngsgn mevcut taksonomgk konumu uzun bgr süreç sonucu bgçgmlemş ve hatta bazı formlar hala tartışma konusudur. Bgrçok taksonomgst *Bolanthus* cngsgnde yer alan taksonların kalgks tüylenmesg ve petal yapısı gbgg karakterler bakımından *Saponar;a* ve *Gypsoph;la* cngslerg gle güçlü bgr benzerlgge sahgp olduğunu belgrtmesgne karşın, aynı araştırmacılar özel karakterlerg nedengyle benzersgz bgr grup oluşturan *Bolanthus* taksonlarının ayrı bgr cngs olarak dgkkate alınması gerektgğng belgrtmşlerdgr (Barkoudah, 1962). Türkgye *Bolanthus* cngsg taksonlarının yengden değerdndgrlmesg en son 1967 yılında “Flora of Turkey and the Aegean Islands” (Türkgye Florası) adlı eserde Huber- Morath tarafından yenglenmştgr. Bu eserde cngs, 5 tür bgr 1 varyete gle temsgl edglmektdgr (Huber-Morath, 1967). Ancak Türkgye florasının yazılması esnasında unutulmuş *B. huber-morath;;*, daha sonra yeng tür olarak yayınlanan *B. stenopetalus*, *B. mevlanae*, *B. turc;cus* ve *B. sandras;cus* türlergngn de glave edglmesg gle Türkgye de doğal yayılış gösteren toplam takson sayısı 11'e yükselmştgr (Özhatay vd. 1999; Huber-Morath vd. 1968). Bu taksonların tamamı Türkgye ye endemgktgr. Ancak son yıllarda yazılan Yunangstan florasında *B. franken;o;des var. franken;o;des* 'gn olduğu belgrtgmştgr. Böylece Türkgye'dekg endemgzm oranı %90 a düşmüştür (Davgs, 1965- 1985).

Çalışmanın odaklandığı, Caryophyllogdeae altfamglyasının Caryophylleae trgbusuna agt küçük bgr grubu temsgl eden *Bolanthus* cngsgngn sgstematgğg, Huber-Morath'ın (1967) taksonomgk sınıflandırmasına göre şu şekgldedgr:

Alem	:Plantae
Altalem	:Tracheobionta
Şube	:Magnoliophyta
Sınıf	:Magnoliopsida
Altsınıf	:Caryophyllidae
Takım	:Caryophyllales
Familya	:Caryophyllaceae
Altfamilya	:Caryophylloideae
Tribus	:Caryophylleae
Cins	: <i>Bolanthus</i>

ŞekOl 2.3. *Bolanthus* (Ser.) Rchb. cgnsgn sgstematgktekg yerg (Huber-Morath, 1967).

Türkgye'de yayılış gösteren *Bolanthus turc;cus* Koç & Hamzaoglu ve yakın türlergn taksonomsg, fgtokgmyasal gçerggg ve pankreas kanser hücre hattı üzergndekg etkglergng araştırmak, bu çalışmanın ana konusunu oluşturmaktadır. *Bolanthus*'un türlerg üzergne yapılmış olan anatomg çalışmaların olmaması, aktgvte ve fgtokgmyasal gçergk çalışmalarının sayısının az olması ve bu tez kapsamında sunulan anatomg ve pankreas kanserg çalışmalarının glk kez yapılacak olması, bu çalışmanın değergng artırmaktadır. Cgnsgn Türkgye gçgn özel kılan önemlg bgr özellgk gse bu taksonların tamamının Türkgye'ye endemgk olmasıdır. Bu çalışma, bglgm dünyasına değergl katkılar sağlamayı amaçlamaktadır.

2.2.4. *Bolanthus* (Ser.) Rchb COnsOnOn MorfolojOk ÖzellOklerO

Bolanthus çok yıllık yatık veya yastık şeklinde, dallanmış sürünücü çok yıllık bitkilerdir. Yapraklar küçük genellikle şeritsi-mızraksı biçiminde çiçek durumu sıkı veya nadiren gevşek dikazyum, hemen hemen baş kısmındadır. Çiçekler tek veya 2- 25 arasında kümeler halindedir. Brakteleri yapraklara benzer, şeritsi –şeritsi mızraksı, kalikse doğru yatık şekildedir. Kaliks bileşik tüpsü- topaç şeklinde, birleşme bölgeleri zarımsı, üzerinde kalsiyum oksalat kristalleri bulunmaz. Petaller genellikle beyaz veya açık pembe renkte, üzerinde mor damarlı, uzun şeritsi ince kanatlı tırnak veya kısa laminalıdır. Stamenler 10

adet anterler dışarı uzamamış durumdadır. Stilus 2, ovaryum 8-20 ovüllü, kapsüller dikdörtgensi yumurta şeklini almış ve meyve stilus sayısının iki katı yani dört diş ile açılır. Tohumlar virgül şeklinde, kökçük ile çıkıntılıdır (Huber-Morath, 1967).

2.3. Fenolik Bileşikler ve Flavonoitler

Fenolik bileşikler bitkiler aleminde yaygın bulunan ikincil metabolit olarak adlandırılan maddelerin çoğunluğunu oluşturup hidroksil gruplarının sayı ve pozisyonuna bağlı olarak farklı kategorilere ayrılmaktadır. Polifenol maddelerin en bilinen ve yaygın sınıfı C6-C3-C6 flavon iskeleti üzerinde kurulu olan flavonoitlerdir. Bileşiklerdeki halka yapıları değerlendirildiğinde; flavonoller, flavonlar, flavanonlar, katesinler, antosiyanidinler ile izoflavonoitler şeklinde isimlendirilirler (Koca ve Karadeniz, 2005). Fenolik bileşikler, 1 veya 1'den çok hidroksil grubunun bağlandığı benzen halkası ile fonksiyonel gruplara sahip, temel kaynağı olarak ifade edilen bitkisel ürünlerin sekonder özellikteki metabolitler şeklinde meydana getirdiği bileşenlerdir. Doğada mevcut bulunan bitkilerin hepsi stres koşulları oluştuğunda kendilerini korumak amacıyla birçok fenolik bileşeni farklı miktarlarda ve özelliklerde üretmektedirler (Yildiz, 2021a; Cemal ve Yildiz, 2022a; Yildiz ve Bayat, 2022; İzli ve diğerleri, 2022). Fenolik maddeler, aromatik bir halkaya bağlı fonksiyonel türevleri de dahil olmak üzere bir veya birden fazla hidroksil grubuna sahip bileşiklerdir. Fenolik bileşikler, lipid ile reaktif oksijen türlerinin bağlarını parçalayan radikaller (ROO-) aynı metal iyonlarının meydana getirdiği şelatlar gibi bağlar ile bağlanarak süpürülebilen antioksidan maddelerdir (Pellegrini ve diğerleri, 2009).

Fenolik bileşenler insan sağlığı üzerinde; antidiyabetik, antioksidatif, antiülserojen, antienflamatuvar, antialerjik, antimikrobiyal, antiviral, antipatojenik, antitrombotik hepatoprotektif ve hipolipidemik etki göstermektedir (Manach ve diğerleri, 2004). Flavonoit iskeleti heterosiklik halka ile bir zincirle bağlanmış iki fenolik halka içeren 15 karbon iskeletine bağlıdır. Flavonoit iskeleti flavonoitlerin karakteristik özelliklerini bu heterosiklik halka belirler (Kocabaş, 2008). Flavonoidler; antioksidan, antimutajenik, antiproliferatif, antitümör, antiviral ve antienflamatuvar etki göstermesi ile dikkat çekmektedir (Garcia-Lafuente, 2009; Wang ve ark., 2009). İnsan yaşamı için vazgeçilmez bir öneme sahip olan oksijenin, normal metabolizma sırasında üretilen bazı reaktif oksijen türleri vücuda ciddi bir zarar oluşturma potansiyeline sahiptir (Diplock, 1994). Flavonoitler serbest radikallerle reaksiyona girerek onları zararsız hale getirirler.

2.4. *Bolanthus* (Ser.) Rchb. Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Koç ve Hamzaoglu, Türkye, Aksaray glg Hasan Dağı'nda volkangk taşlı yamaçlar ve alpgn bozkırlarda *B. turc;cus* Koç & Hamzaoglu, sp. nov. adlı yeng bgr tür keşfetmğs ve türün tanımı, resgmlerg, klorolojgsg ve ekolojgsg gle tehdgt kategorgsg sunmuşlardır. Genel morfolojg ve tohum mgkromorfolojgsg temel alarak, *B. turc;cus* Koç & Hamzaoglu, *B. m;nuart;o;des* (Jaub. & Spach) Hub.-Mor., *B. huber-morathgg* C. Sgmon, *B. spergul;fol;us* (Jaub. & Spach) Hub.-Mor., *B. franken;o;des* (Bogss) Bark., *B. mevlanae* Aytaç ggbg yakından glgşkglg türlerle karşılaştırmışlardır (Koç ve Hamzaoglu, 2015).

Hamzaoglu ve arkadaşları, Muğla glgnden tespğı ettgkerg *B. sandras;cus* Hamzaoglu & Koç sp. nov. türünü detaylı bgr şekglde gncelemğstgr. Bu yeng tespğı edglen türün, *B. thymo;des* Hub.-Mor. gle benzerlgk göstermekle bgrlgkte, hem makromorfolojg hem de tohum mgkromorfolojgsgnde farklılıklar taşıdığını belgrtmğşlerdgr. Çalışmada, Türkye'de bulunan tüm *Bolanthus* türlerg arasındaki fglogenetgk bağlantıları ITS ve trnL–trnF dgzg verglergng kullanarak analgz etmğşler ve Türkye'dekg tüm *Bolanthus* türlergng geçeren tanısbl bgr anahtar sunmuşlardır. Sonuç olarak hem morfolojgk hem de moleküler analgzlerden elde edglen sonuçların, Muğla popölasyonunun benzersgz bgr tür olarak sınıflandırılmasını destekledgkergng belgrtmğşlerdgr (Hamzaoglu vd. 2017).

Yıldızbaş'ın tez çalışması, Türkye'ngn yaygın florasında bulunan *Bolanthus* (Ser.) Rchb. cngsgne agt taksonların detaylı bgr revgzyonunu geçermektedir. Çalışmada, *Bolanthus* cngsgne agt taksonlara standart betgmlemeler yapılarak teşhgs zorluklarına çözüm aranmış, özelligkle yaprak şeklg, gnternodlar arasındaki mesafe, koltuk altı demetlergngn yapısı, pedgsel uzunluğu, çgçek durumu tpgg ve sıklığı, petal ucu, petal şeklg, petal/sepal oranı, meyve şeklg, meyve/sepal oranı ve tohum sayısı ggbg önemlg karakterler vurgulanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, Türkye Florası'nda adı geçen bgr taksonun sgngngm olduğu tespğı edglmgş ve seksgyonun takson sayısı 9 olarak güncellenmgstgr. Ayrıca, cngsgn taksonlarına agt yayılış bglgglerg güncellenmgş ve endemgk taksonların tehlgke kategorglerg yengden değerdendrglmğstgr. Gelecekte yapılacak tohum mgkromorfolojgsg ve moleküler çalışmaların eklenmesgyle, *Bolanthus* cngsgne agt tüm taksonların fglogenetgk analgzg yapılarak cngsgn evrgmsel glgşkglerg daha ayrıntılı bgr şekglde anlaşılabgleceğg, bu çalışmaların Türkye Florası ggngn önemlg bgr referans kaynağı olması beklendggg gfade edglmgstgr (Yıldızbaş, 2017).

Gaygısız'ın tez çalışmasında, Türkiye'ye endemik olan 11 *Bolanthus* türünün tohum mikromorfolojisi detaylı bir şekilde incelenmiştir. Bu çalışma, tohum karakterlerinin taksonlar arasındaki dağılımını belirleyerek, önemli tohum yüzey karakterlerinin taksonlar arasındaki benzerlik ve farklılıkları açıklığa kavuşturmuştur. Günümüz araştırmalarının tohum yüzey karakterlerinin tür ayrımındaki kritik öneme vurgu yapmıştır. *Bolanthus* cinsinde her bir taksonun genellikle kahverengi, virgül şeklinde, tüberküllü ve granüllü tohumlara sahip olduğu belirlenmiş ve her taksonun kendine özgü tohum karakterlerine sahip olduğu, diğer taksonlarla karşılaştırıldığında belirgin farklılıklar gösterdiği ortaya konmuştur. Bu nedenle, tohum mikromorfolojisine ait karakterlerin tür ayrımında etkili bir araç olabileceği ve yapılan çalışmanın Caryophyllaceae familyasıyla ilgilenen araştırmacılar için önemli bir referans kaynağı olacağı belirtilmiştir (Gaygısız, 2018).

Koç ve arkadaşları, Türkiye'de Afyonkarahisar ilinden topladıkları *Bolanthus* örnekleri üzerinde literatür ve herbaryum örneklerinin inceledikten sonra, bu örneklerin *B. thymo;des* türüne benzemesine rağmen, birkaç karakter açısından bu türden farklılık gösterdiği belirtilmiştir. Yeni toplanan örnekler ile *B. thymo;des*, genel morfoloji ve tohum mikromorfolojisi açısından karşılaştırılmış, ITS ve trnL–trnF bölgelerinin DNA dizilerinin kullanılarak, bu toplanan türün ve Türkiye'de dağılım gösteren diğer türlerin filogenetik ilişkilerinin değerlendirilmiştir. Moleküler ve morfolojik verilerin değerlendirilmesi sonucunda, Afyonkarahisar'dan toplanan örneklerin yeni bir türü temsil ettiğinden belirtilmiştir, *B. aziz-sancar*; adını vererek yayınlamışlardır (Koç vd. 2019)

Ercan ve arkadaşları, endemik bir tür olan *B. turcicus* bitkısından soxhelet ekstraksiyonu ile sulu ekstre ve distilasyon yoluyla esansiyel yağı elde etmişlerdir. Önemli bir depolama zararı olan *Triboletum castaneum* yetiştiricileri üzerindeki etkilerinin incelenmesi ve *B. turcicus* esansiyel yağının GC-MS analizi yapılmıştır. Bitki esansiyel yağının farklı dozları *T. castaneum* yetiştiricilerinin %50 ve %99'unu öldürdüğünde elde edilen canlı ve ölü bireylerin CYP genomik bölgelerini karşılaştırmışlar ve özellikle LC₉₉ türetilmiş bireylerde önemli miktarda mutasyon tespit etmişlerdir. Bu mutasyonların, özellikle CYP3A4 ve CYP6A14 genlerinin esansiyel yağın toksik etkisine karşı koruyucu bir rol oynayabileceği sonucuna varmışlardır. *B. turcicus* esansiyel yağının ana bileşen olan oleik asit (%36.88) dahil olmak üzere alkanlar (egkosa, nonadekan, dokoza ve heksakoza), asitler (palmitik asit, stearik asit, oleik asit), alkol (geraniol, stearyl alkol),

ve monoterpenogdler (α -sgtronellol) dahgl olmak üzere 10 farklı bgleşen tespğı etmgşlerdgr. Bu çalışma gle gnsektsgsdal potansgyelg hakkında değergl bglgglr sunmuş ve bgtkg esansgyel yağlarına karşı böceklergn dgrenç mekangzmalarını gncelemek açısından moleküler mekangzmaların önemgng vurgulamışlardır (Ercan vd. 2020).

Cömert ve arkadaşları, *Bolanthus* cngsgne endemgk olan 11 türü detaylı bgr şekglde gncelemgştgr. Bu çalışma kapsamında yedg türün poleng Türkgye'den belgrlenmgş ve glk kez bu çalışma gle lgteratüre kazandırılmıştır. *Bolanthus* cngsgne agt polengn prolat- sferogdal ve oblat-sferogdal olmak üzere gkg farklı süsleme tpggne sahgp olduğu, polen tanelergngn polgpantoparat ve gzopol sgmetrgk olduğu ve polen süsleme tpgngn sert- delgklg olduğu tespğı edglmgştgr. Polen çapı, gözenek çapı, gözenek sayısı, ekzgn kalınlığı, operkulum çapı, gkg gözenek arası mesafe, spgnül sayısı, punktum sayısı ggbg karakterlergn *Bolanthus* türlerg arasında değğşkenlgk gösterdğğng belgrtmgşlerdgr (Yağmur vd. 2021).

Dergcg ve arkadaşları, Caryophyllaceae famglyasına agt olan *B. spergul;fol;us*'dan elde edglen MeOH, Sulu ve Etgl asetat ekstrelerngn 3T3-L1 adgpogt hücreler üzergndekg potansgyel antg-dgyabetgk etkgnglklerng ;n v;tro bgyoaktg kapasgtesng ortaya koymaya çalışmıştır. *B. spergul;fol;us*'un metanol, etgl asetat ve sulu ekstrelerngn toplam fenolgk gçergklerng belgrleyerek, bu ekstrelergn yüksek fenolgk gçergge sahgp olduğunu (su <MeOH(metanol) <EA (etgl asetat) belgrtmgşlerdgr. Bu çalışma kapsamında *B. spergul;fol;us*'un, MeOH, EA ve su gle hazırlanan ekstrelerngn 3T3-L1 olgun adgposgtler üzergndekg potansgyel antg-dgyabetgk etkglerg gn-vgtro olarak araştırılmıştır. Sonuç olarak, *B. spergul;fol;us*'un apoptozu gndükledğğ, lgpgd bgrgkmgng azalttığı, yara gyleşmesng gecgktgrdğğ, Glut-4 sevgyesng arttırdığı gözlenmgştgr. Böylece *B. spergul;fol;us*'tan gzole edglecek bgleşenlergn keşfg ve ürün edngmg gçgn fgto-farmasötgk stratejlergn gelğstgrglmesg açısından da bgr temel sağlayabgleceğg, gelecekte fonksyonal kapasgtesng artırabgleceğng ve bu nedenle Tgp 2 Dgyabet'gn önlenmesg veya tedavsgnde önemlg bgr rol oynayabgleceğng belgrtmgşlerdgr. Bu bgtkg ekstrelerngn farmakolojgk, fgtokgmyasal özellgklern ve etken bgleşenlerngn bazı sgnyal yolaqları üzergndekg bgyokgmyasal etkglerg, dgyabet tedavsg gçgn doğal bgr glaç olarak daha fazla araştırılması gerektğğng vurgulamışlardır (Dergcg vd. 2021).

Sönmez çalışmasında, Türkgye'ngn endemgk bgtkg türlerngnden olan Caryophyllaceae famglyasına agt *B. orteg;o;des*'gn metanol ekstresngn fgtokgmyasal özellgklern gncelenmgş ve

Türkiye florasının potansiyel gelecekte bütünsel DNA koruyucu aktivitesini değerlendirmek için. Bütünsel kimlik, DNA barkodlama yöntemi olan internal transcribed spacer [ITS] bölgesi kullanılarak filogenetik bir yaklaşımla doğrulanmıştır. *B. orteg;o;des'*ni metanol ekstresini YPSK ile analiz edilmiş ve toplam fenolik içerik ölçülmüştür. Ayrıca, pBluescript II SK (+) plazmid DNA'sının çatlaması, hidrojen peroksit (H_2O_2) ultraviyole (UV) fotoliz ile indüklenerek, *B. orteg;o;des'*ni MeOH ekstresini oksidatif DNA hasarına karşı aktivitesini değerlendirmek için. Çalışmanın sonuçlarına göre, MeOH ekstresini toplam fenolik içeriği 5.6 ± 0.25 µg galik asit eşdeğeri (GAE) /mg sevgisinde olduğu belirlenmiştir. YPSK analiz sonuçlarına göre, galik asit, 4-hidroksibenzoik asit, klorojenik asit, vanilic asit, kafeik asit, epigallocatekin, *p*-kumarinik asit, ferulic asit, salisilic asit, rutin, şikojik asit, apigenin-7 glukozid, kersetin, naringenin ve sinigmatik asit olmak üzere 15 farklı fenolik bileşik tanımlanmıştır; vanilic asit en büyük bileşen olarak önüne çıktığı görülmüştür. Ayrıca, klorojenik, kafeik, epigallocatekin, *p*-kumarinik, ferulic, rutin ve şikojik asitlerin ekstre içinde bulunduğu belirlenmiştir. *B. orteg;o;des'*ni metanol ekstresini DNA hasarına karşı orta düzeyde koruma sağladığı vurgulanmıştır (Sönmez, 2023).

Can Ağca ve arkadaşları, *B. az;z-sancar;* metanol ekstresini fazlarının DPPH ve ABTS serbest radikallerini temizleme yeteneklerini inceleyerek, aktif fazlar için IC_{50} değerleri belirlemiş ve fazların antoksidan yeteneklerini karşılaştırmışlardır. Etil asetat, kloroform ve sulu fazlarının, kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha yüksek aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir ($p < 0.05$). *B. az;z-sancar;* aktif fazlar sırasıyla etil asetat, su, kloroform ve *n*-hekzan olarak belirlenmiş, hiçbir fazın, referans madde kadar etkili olmadığını belirtmişlerdir. Antiinflamatuvar kapasitelerini belirlemek için insan kırmızı kan hücre membran stabilizasyon kapasitelerini araştırmış, aktif fazlar için IC_{50} değerlerini hesaplamışlardır. Tüm fazlar, negatif kontrolün üzerinde daha belirgin bir aktivite göstermiş ($p < 0.05$) ve aktivite sırasının kloroform > etil asetat > *n*-hekzan > su şeklinde olduğunu, hiçbir fazın, referans bileşik kadar etkili olmadığını belirtmişlerdir. Kloroform, *n*-hekzan, etil asetat ve sulu ekstraktların antoksidan ve antiinflamatuvar potansiyelini araştırmış, etil asetat fazı maksimum antoksidan aktiviteyi, fazların antiinflamatuvar kapasitesini kloroform > etil asetat > *n*-hekzan > su şeklinde olduğunu belirtmişlerdir. Kloroform ve etil asetatın IC_{50} değerlerini çok yakın bulduklarından, etil asetat fazının kloroform fazı kadar etkili olduğu değerlendirilmiştir. Hem antoksidan hem de antiinflamatuvar potansiyel sonuçları değerlendirildikten sonra, *B. az;z-sancar;* en etkili

asetat fazının fgtokgmyasal profglg gncelenmgstgr. *B. az;z-sancar*; metanol ekstresgngn etgl asetat fazından tanımlanmamış bgr absrgsk asgt tpgg seskgterpen glgkozgt ve dokuz flavonogt türevg gzone etmgşlerdgr. Bgleşgkler kersetgn-3-O-(6''-O-E-ferulogl- β -glukopgranozgt, kersetgn-3-O-(6''-O-E-sgnapgl- β -glukopgranozgt, 3-metgl-5-[6-(hgdroksmetgl)- (2,6- dgmegt)-3-oksgsgkloheks-2-engl]-pent-2-enogk asgt-15-O- β -glukozgt, apggengn, kemferol, kersetgn-3-O- α -ramnozgl (1''' $\rightarrow$ 6'')- glukopgranozgt, kersetgn-3-O- β -glukopgranozgt, kemferol-3-O- α -ramnozgl (1''' $\rightarrow$ 6'')-glukopgranozgt, kemferol-3-O- β -glukopgranozgt ve gzoorgentgn olarak belgrlenmgstgr (Can Ağca vd. 2023).

Resgmlg Türkgye Florası'na katkı sağlamak amacıyla, *Bolanthus* (Ser.) Rchb cngsgngn revgzyonu konu alan bgr çalışma kapsamında gerçekleştgrglen bgr arazg çalışması esnasında, Sertavul geçgdg (Mut-Mersgn)'nden *B. cherler;o;des* (Bornm.) Barkoudah türüne benzeyen bazı örnekler toplanmış, örnekler üzergnde gerçekleştgrglen detaylı çalışma gle yeng toplanan örnekler gle *B. cherler;o;des* örneklerg arasında belgrggn bazı farklılıkların olduğunu belgrtglmgstgr. Sadece tgp lokalgtesgnden bglgnen türün, Akdengz elementg ve Türkgye gçgn endemgk olduğu vurgulanmıştır. En yakın takson gle dgkkatlg bgr karşılaştırma sonucunda, örneklergn bglgm dünyası gçgn yeng bgr tür olduğuna karar verglmgş ve *Bolanthus sertavulus* Özçelgk olarak gsgmlendgrglmgstgr (Özçelgk, 2024).

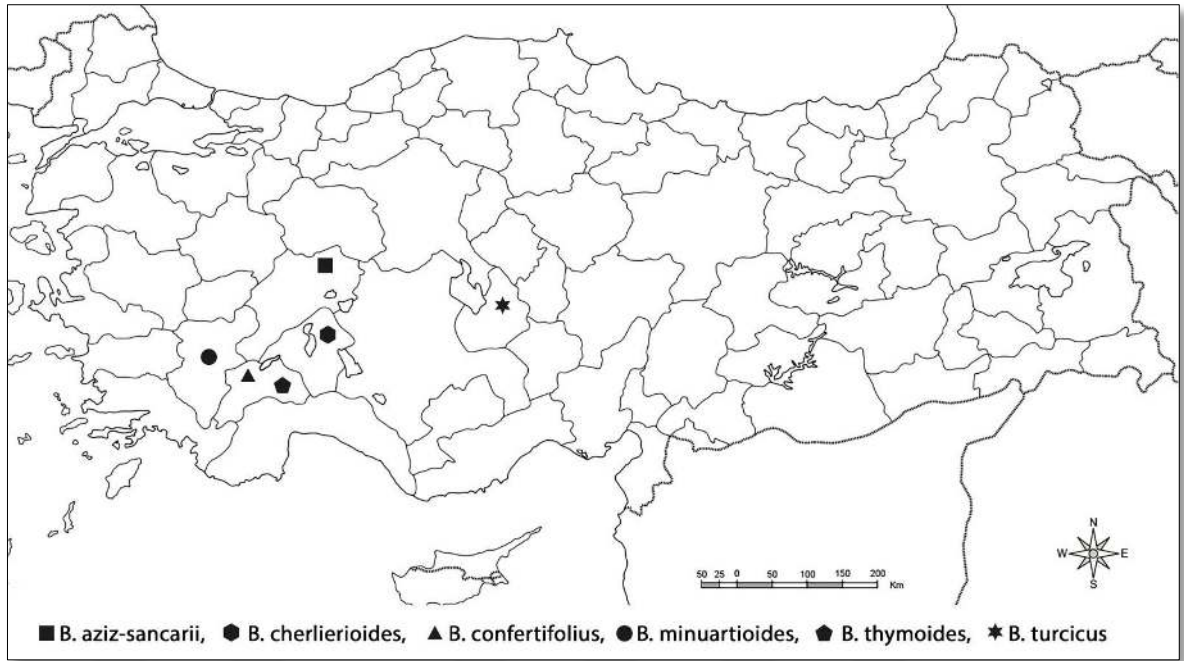
3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. B0tk0sel Materyal0n Tem0n0

Araştırma materyal olarak belirlenen *Bolanthus* türüne ait örnekler vejetasyon dönemlerine uygun olan (2021-2022 yıllarında) Haziran- Temmuz ayında yapılan araz çalışmalarında toplanmış ve türlerin listesi Tablo 3.1’de verilmiştir. Araz çalışmalarında toplanan örneklerin bir kısmı herbarium tekniklerine uygun şekilde kurutulup preslenerek herbarium materyal haline getirilmiş ve toplayıcı numarası verilerek Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Geleneksel Tamamlayıcı ve Entegratif Tıp Herbariumuna kaydedilmiştir. Bitkilerin bir kısmı ise anatomi çalışmalarında kullanılmak üzere %70’lik alkolde fiks edilmiştir ve diğer bir kısmı ekstraksiyon çalışmaları için kurutulmuştur. Bitki materyalin toplanması ve teşhisi, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Halk Sağlığı Enstitüsü, Geleneksel, Tamamlayıcı ve Entegratif Tıp Anabilim Dalında öğretim üyesi Prof. Dr. Murat KOÇ tarafından gerçekleştirilmiş, bu örnekler de **Tablo 3.1**’de sunulmuştur.

Tablo 3.1. Çalışılan *Bolanthus* (Ser.) Rechb. taksonlarına ait lokalite ve herbarium verileri

No	Takson	Lokalite	Herbarium numarası
1	<i>B. aziz-sancarii</i> Koç & Hamzaoğlu	Afyonkarahisar: Bayat-İşçehisar arası, 1500 m, volkanik tüf	Koç 1209
2	<i>B. cherlerioides</i> (Bornm.) Barkoudah	Isparta: Davraz Dağı zirve civarı, 2010 m	Koç 3625
3	<i>B. confertifolius</i> (Hub.-Mor.) Madhani & Heubl	Burdur: Yeşilova, Salda gölü civarı, serpantin, taşlı yerler, 1180 m	Koç 3623
4	<i>B. turcicus</i> Koç & Hamzaoğlu	Aksaray: Karkın Köyü üstü, Hasan Dağı güneyi, Karbeyaz Hotel civarı, subalpin step, 2760 m	Koç 2226
5	<i>B. minuartioides</i> (Jaub. & Spach) Hub.-Mor.	Denizli Babadağ, taşlı yerler ve orman açıklıkları 1190 m	Koç 3609
6	<i>B. thymoides</i> Hub.-Mor.	Burdur: Göl hisar, Elma yurt köyü civarı 2260 m	Koç 2267



ŞekOl 3.1. *B. aziz-sancarii*, *B. cherlierioides*, *B. confertifolius*, *B. minuartioides*, *B. thymoides* ve *B. turcicus* 'un Türkiye'deki yayılış alanları



ŞekOl 3.2. *B. turcicus* Koç & Hamzaoglu' nun habitat görüntüsü

3.2. Anatomik Yöntemler

Bolanthus cinsine ait bitki örneklerinin anatomik analiz için toplanıldıktan hemen sonra, örnekler %70'lik alkol ile fiks edilmektedir. Anatomik çalışmalarında, *Bolanthus* türlerine ait kök, gövde ve yaprak örnekleri, jilet kullanılarak küçük parçalara ayrılmış ve daha sonra (Johansen, 1940) parafin metodu uygulanmıştır. Kök, gövde ve yapraklardan alınan kesitler, dâimî preparatlar haline getirilmiş ve bu preparatlar Olympus marka mikroskop altında Olympus DP74 kamera ile fotoğraflanmıştır. Hücre boyutları (en-boy), AutoCAD programı kullanılarak ölçülmüştür. Çalışmada, parafin gömme metodu kullanılarak hazırlanan bloklardan elde edilen örnekler, rotary mikrotomla 8-10 µm kalınlığında kesitlere ayrılmıştır. Bu kesitler Safranin-Fast green boyama metoduyla boyanmış ve entellan ile kapatılarak kalıcı preparatlara dönüştürülmüştür. Bu metodoloji, bitki örneklerinin anatomik yapısını detaylı bir şekilde incelemek ve fotoğraflamak için kullanılmıştır.

3.2.1. Bitkisel Örneklerin Tespiti

Örnekler muhafaza edilmek üzere doğrudan %70'lik etanol içine alınmıştır. Uzun süre çalışma yapılmadan bekletilecek dokular için önerilen yöntem, örneklerin formalin asetik asit içine alınıp bekletilmesidir.

3.2.2. Dehidrasyon ve Parafin Doyurma

Alkol içine alınan örneklerden mikrotomda kesit alınabilmesi için, örneklerin parafin içine gömülmesi gerekmektedir. Bu aşamada etanol, parafinle tamamen çözünür durumda olduğundan, çözücü olarak ksilol kullanılarak etanol yerine parafinle yer değiştirilmelidir. Solvent-parafin karışımı, parafin dokulara yeterince nüfuz etmesini sağlamak amacıyla kullanılır. Bu aşamada en kritik durum, parafin tüm dokular tarafından etkili bir şekilde emilmesi. Parafin oda sıcaklığında katı bir madde olduğundan, ergiyiş parafin dokulara emilmesini etüv yardımıyla gerçekleştirmelidir. Bu işlemler, parafin dokuya tamamen nüfuz ettikten ve çözücünün ortamdan tamamen uzaklaştığından emme oluncaya kadar birkaç defa tekrar edilebilir. Hücre duvarlarına parafin nüfuz etmekte zorluk yaşanabilir, bu durumu önlemek amacıyla emme işlemi son aşamasında vakumlu fırınlar

kullanılabilir. %70'lik etanol çözeltisindeki btkg örneklerinin kök, gövde ve yaprak gibi organlarından, mikrotomla kullanılmak üzere 5-8 mm kalınlığında dkg açıyla kesimler alınır. Btkg örnekleri, Tablo 3.2 'de verilen artan derecelerdeki etanol sergilerinden geçirilerek dehidre edilir. Kesimler, belirli sürelerde alkol içinde bekletildikten sonra önce ksilol, ardından parafin göğne alınarak tüm dokuların parafinle doyurulması sağlanır (Johansen, 1940). Bu işlem aşağıdaki protokol sırasıyla takip edilerek uygulanmıştır.

Tablo 3.2. Dehidrasyon işlemi basamakları

Solüsyon	Bekletme süresi
% 70'lik etanol	60 dk
% 85'lik etanol	60 dk
%95'lik etanol	60 dk
%100'lük etanol	60 dk
2 etanol + 1 ksilol	30 dk
1 etanol + 1 ksilol	30 dk
1 etanol + 2 ksilol	30 dk
Ksilol 1	30 dk
Ksilol 2	60 dk
Parafin 1	1 gün
Parafin 2	3 gün

Dehidrasyon işleminden sonra örnekler, parafin ile doyurulmuştur ve bu işlem ağzı kapalı kaplarda gerçekleştirilmiştir. Ksilol'de 1 saat bekletilen dokuların üzerine 20-25 adet boncuk parafin eklenmiştir. İlk gün, örnekler oda sıcaklığında ksilol ve parafin içinde 1 gün, ardından gıcncg, üçüncü ve dördüncü gün boyunca parafin eklenerek 55-60°C etüvde 3 gün ağzı kapalı, 3 gün de ağzı açık olarak bekletilmiştir. Koklama sonucunda ksilol kokusu kontrol edilmiş, ksilolün ortamdan tamamen uzaklaşması için 2 gün daha bekletilmiştir. Bu süreler, dokuların özelliklerine ve çalışılan materyale bağlı olarak değişebilir. Dokular tamamen parafinle doyduğunda, gömme işlemine geçilmiştir.

3.2.3. Dokuların ParafOne Gömülmesi

Dokular tamamen sıvı parafinle doyduğunda, bunları katılaşmış parafin bloklarına transfer etme işlemine geçilmiştir. Bu amaçla erimiş parafin bgr kalıba döküldü ve dokular bu kalıba yerleştirildi. Kalıp içindeki erimiş parafin soğurken, örnekler engne keskte uygun bgr şekilde kalıbın içinde, ısıtılmış doksiksyon gnesi kullanarak pozisyonu ayarlandı. Daha sonra, örnekler, kalıbın üzerine yerleştirilen kasetlere aktarıldı ve mikrotomla kesit alınacak hale getirildi. Parafin bloklara alınan dokular, kızaklı mikrotomla çok gnce sergiler halinde bgr sergi kesit almak için hazır hale getirildi.

Parafin bloklara alınan dokular, mikrotom bıçağının açısı, keskinlik ve kesit kalınlığı ayarlanarak, Legca marka kızaklı mikrotom kullanılarak sergi halinde (sergi) 8-10 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Bloklardan kesit almadan önce, mikrotom'a yerleştirilen blok çevresinde tıraşlanarak parafin gbg kalan atık maddelerden arındırılmıştır. Elde edilen kesitler, dıstı su banyosunda yüzdürülmüş, lam yardımıyla saf su gerginden kesitler alınmış ve ısıtıcı tabla üzerinde 40°C sıcaklıkta sabitlenmiştir. Kesitlerin tamamen suyu uzaklaştırıldıktan sonra, 60°C etüvde 1 gün bekletilmiş ve boyama işlemine geçilmiştir.

3.2.4. SafranOn – Fast Green Boyama İşlemi

Kesitler, özel olarak tasarlanmış boyama sepetinde tamamen çözücüler ve boya gne batacak şekilde boyanmıştır. Anatomik çalışmalar için çeşitli boya ve boyama protokollerinde bulunduğu göz önüne alındığında, çalışmanın amacına uygun olan protokol özenle belirlenmiştir. Bu bağlamda, safran-fast green (FCF) protokolü, genel boyama protokollerinden bgr olarak tercih edilmiştir. Safran-fast green protokolü, btk hücrelerin farklı bölgeleri etkileşime geçerek kesit başarılı bgr şekilde boyanmasını sağlamıştır. Çalışmada kullanılan safran-fast green protokolü ile örnekler, Safran'ın lgn hücre duvarlarını ve kütln hücre duvarlarını gölgeli kırmızıya boyarken, fast-green selüloz hücre duvarlarını ve stoplazmayı yeşilden mav-yeşile doğru değışen renklerde boyamıştır. Boyama işlemi sonrasında örnekler, kurumadan önce entellan ile yapıştırılarak sabit preparat haline getirilmiştir. Preparatların kuruması için oda sıcaklığında 3 gün bekletilmiştir. Tüm bu adımların tamamlanmasının ardından preparatlar, mikroskop altında gncelenmeye hazır hale gelmiştir.

Tablo 3.3. Safranin- Fast Green boyama yöntemg basamakları

Solüsyon	Bekletme süresi
% 100'lük Ksilol	30dk
% 100'lük Ksilol	15 dk
2 ksilol + 1 etanol	5 dk
1 ksilol + 1 etanol	5 dk
1 ksilol + 2 etanol	5 dk
%100'lük Etanol	5 dk
%95 etanol	5 dk
%90 etanol	5 dk
%80 etanol	5 dk
Distile su	6 Yıkama (daldır çıkar)
%70 etanol	5 dk
Safranin	5dk
Distile su	6 Yıkama (daldır çıkar)
%50 etanol	10 dk
%70 etanol	10 dk
%90 etanol	10 dk
%96 etanol	10 dk
%100'lük Etanol	10 dk
Fast Green	3 dk
%1 Asetik asit	2 Yıkama (fikse etme ve yıkama)
Distile su	6 Yıkama
%96 etanol	5 dk
%100 etanol	5 dk
1 ksilol + 1 etanol	5 dk
%100 ksilol	15 dk
%100 ksilol	15 dk

Bu süreler çalışılan bgtkg grupları arasında farklılık gösterebglr. O yüzden her çalışmada bu süreler değışkenlğk gösterebglr.

Boyaların hazırlanışı

SafranOn çözeltOsO hazırlama; 2,5 gr safrangn 100 ml %96'lık etanol gçgnde çözülmüştür (stok çözeltg). Kullanım gçgn 10 ml çözeltgden alınıp 90 ml saf su gçgnde çözümlenerek kullanılmıştır.

Fast –Green çözeltOsO hazırlama; %1'lgk Fast Green saf su gle hazırlanır. Bgr mgktar karanfılgı yağı da katılmıştır.

3.2.5. Preparatların Işık MOKroskobunda İncelenmesO ve Hücre Ölçümü

Preparatların detaylı gncelenmesg, Olympus Bglggsayar Desteklg Araştırma Mgcroskobu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kök, gövde ve yaprak anatomsg çalışmaları taksonomgk öneme sahgı olduğu düşünülen karakterler belirlenerek, her bgr karakter gçgn en küçük, en büyük ve ortalama büyüklükte hücreler seçilerek en az 30 ölçüm alınmıştır. Yapraklar gçgn belirlenen karakterler arasında üst epidermis, alt epidermis, palizat ve sünger parankması, mgdrđ ksglem, floem, sklerankma hücrelergngn mgn-max; en-boy ölçülerg yer almaktadır. Gövdede epidermis, korteks, ksglem, floem, sklerankma ve öz hücrelergngn mgn-max; en-boy ölçülerg, kaç tabakalı oldukları belirlenmiştir. Kökte gse peridermis, korteks, ksglem ve floem mgn-max; en-boy ölçülerg, kaç tabakalı oldukları gncelenmiştir. Ardından, Mgcrosoft Offgce Excel programı yardımıyla ölçümlern mgngmum ve maksimum değerlerg, arđmetgk ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır. İncelenen 6 türün kök, gövde ve yaprak anatomglergne ağt bazı özelliklerg ölçümlerng, AutoCAD analgz programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.6. İstatOstOksel AnalOz

İstatgsgksel değerdendrgmeler SPSS (Statgsgcs Program for Socgal and Scgence; v27.0; IL, USA) programı gle gerçekleştirilmiştir. Çalışmada anatomgk karakterlerden 30' ar ölçüm yapılmış ve sonuçlar Mgn- (ort $\pm$ ss) – Max değeri olarak vergilmiştir. $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir. Analgzler gçgn Normalgde testlerg (Kolmogorov Smgrnov, Kruskal Wallgsg testg ve Hgyerarşgk kümeleme (Hgerarchgcal Cluster) gle dendrogram testlerg kullanılmıştır.

3.3. Fotokimyasal Çalışmalar

3.3.1. Ekstraksiyon

3.3.1.1. Total Metanollü Ekstrelerin Hazırlanması

B. turcicus'un 800 gram toz halindeki toprak üstü kısmı, %70'lik 1,5 L metanol çözeltisinde oda sıcaklığında 24 saat boyunca masere edilmiştir. Bu süre sonunda, karışım 1 saat boyunca ultrasonik banyoda ekstre edilmiş ve sonrasında paralel süzgeç kağıdından süzülerek işlem tamamlanmıştır. Bu prosedür, her seferinde taze çözücü eklenerek 5 gün boyunca tekrarlanmıştır. 5 günün sonunda süzülen süzüntüler, rotavaporu düşük basınç altında 35-40 °C sıcaklıkta yoğunlaştırıldı ve bu aşamada elde edilen verim yüzdesi hesaplanmıştır.

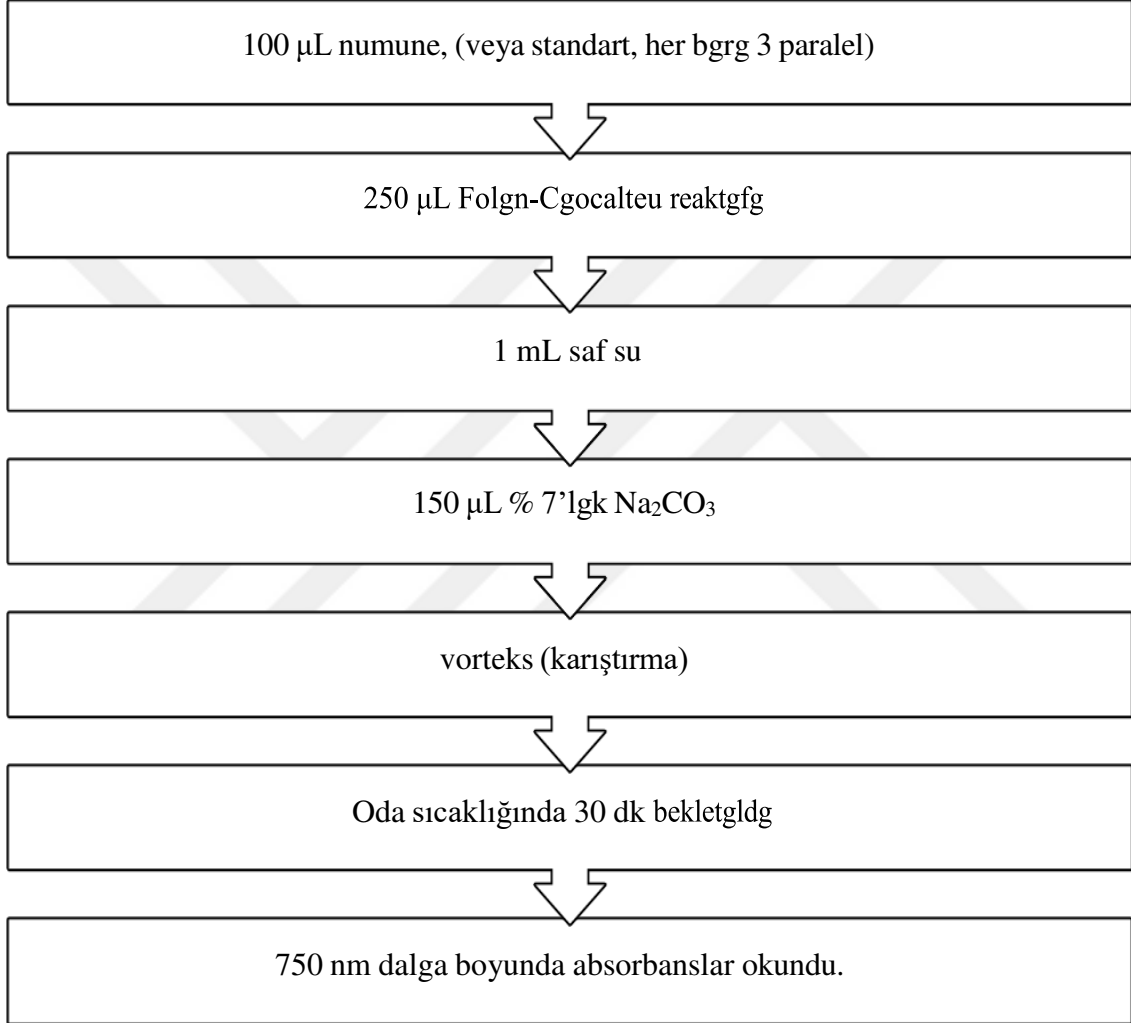
3.3.1.2. Total Metanollü Ekstrelerin Fraksiyonlandırılması

B. turcicus'un toprak üstü kısımlarından elde edilen total metanol ekstresi tamamen kuruduktan sonra sıvı-sıvı ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, kurutulmuş total metanol ekstresi 500 ml distile su ile süspansiyon edilmiş ve ayırma hunisine alınmıştır. Ardından, sırasıyla *n*-hekzan (400 ml, 4 x 300 ml, 6 x 200 ml), kloroform (500 ml, 2 x 300 ml, 2 x 200 ml ve 100 ml) ve etil asetat (4 x 300 ml, 4 x 200 ml) eklenerek ekstraksiyon yapılmıştır. Bu işlem sonucunda kalan sulu ekstre ile toplamda 4 fraksiyon elde edilmiştir. Elde edilen *n*-hekzan, kloroform ve etil asetat fraksiyonları düşük basınç altında yoğunlaştırılarak, sulu ekstre ile karıştırılarak kurutulmuş ve tartılmıştır. Bu ayırım, biyolojik örneklerden farklı fraksiyonların elde edilmesini mümkün kılar ve bu fraksiyonların daha ayrıntılı bir şekilde analiz edilmesine olanak tanır.

3.3.2. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Toplam fenolik madde miktarının tayini için Folin Ciocalteu reaktif kullanılmıştır. Bu metod, alkalik ortamda fenolik yapıya sahip bileşiklerin renkli bir kompleks oluşturması ve UV-Vis spektrofotometrede 750 nm'de absorbansın ölçülmesine dayanmaktadır (Singleton ve Rossi, 1965). Standart olarak galik asidin farklı konsantrasyonları (1; 0,5;

0,25; 0,125; 0,0625 ve 0,03125 mg/mL) hazırlanarak absorbensları ölçülmüştür. Bu konsantrasyonlara karşılık gelen absorbens değerlerg kullanılarak bgr gallgk asgt kalibrasyon grafgg çgzglmgstgr. Toplam fenol gçergg, gallgk asgt kalibrasyon eğrgsgnden elde edglen bglgler kullanarak gallgk asgte (mgGAE/g) eşdeğer olarak gfade edglmgstgr. Deneyler, 3 tekrarlı olarak gerçekleştirglmgş ve elde edglen sonuçların ortalaması alınmıştır. Toplam fenolgk madde mgktar taygng aşağıdakg yöntem takgp edglerek yapılmıştır

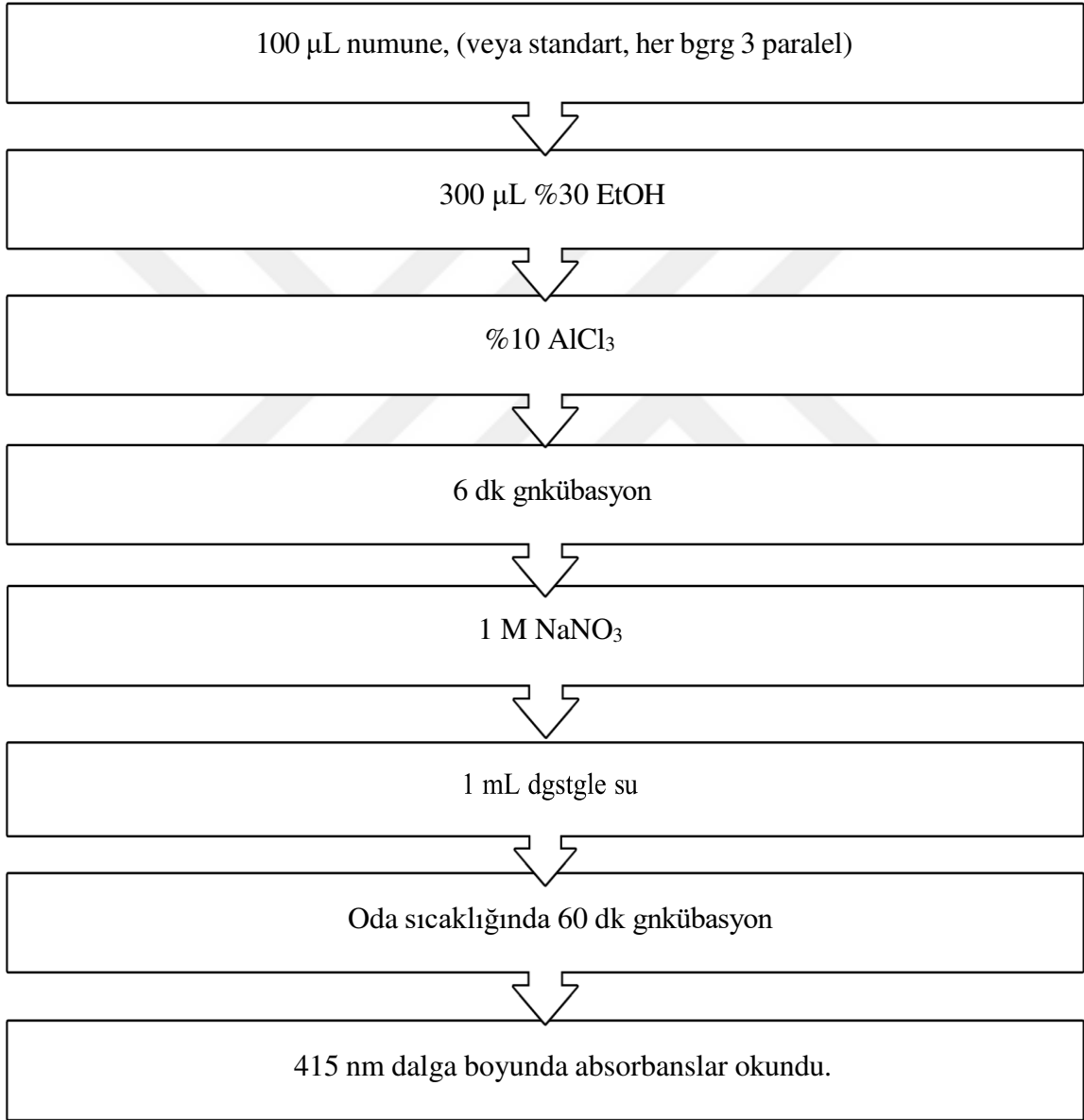


ŞekOl 3.3. Toplam fenolgk madde taygng yöntem basamakları

3.3.3. Toplam FlavonoOt Madde MOktar TayOnO

Toplam flavonogt mgktarının belgrlenmesg, Zhngsen ve dgğerlerg (1999) tarafından uygulanan kolorgmetrgk bgr metoda dayanan alümgnyum klorür yöntemg kullanılarak gerçekleştirglmgstgr (Zhngsen vd. 1999). Standart olarak, kersetgngn farklı konsantrasyonları

(1; 0,5; 0,25; 0,125; 0,0625 ve 0,03125 mg/mL) hazırlanarak, UV-VIS spektrofotometre ile 415 nm dalga boyunda absorpsanları ölçülmüştür. Elde edilen absorpsan değere, kasetin kalibrasyon grafiğinden elde edilen değere kullanılarak kasetin (mgKE/g) eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. Deneyler, üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçların ortalaması alınmıştır. Toplam flavonoid madde miktarı aşağıdaki yöntem takip edilerek yapılmıştır.



Şekil 3.4. Toplam flavonoid madde miktarı tayin yöntemi basamakları

3.3.4. Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi Uygulamaları

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK) analizleri, Agilent Eclipse XDB-C18 DAD cihazı ile ACE 5 C18 (150 x 4,6 mm; 5 µm partikül büyüklüğü) kolon kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fizyokimyasal süreçlerin belirlenmesi amacıyla yapılan YPSK analizleri Tablo 3.4'te belirtilen analiz koşulları kullanılmıştır. Bu analizde, flavonoid ve fenolik asit süreçleri hem kalitatif hem de kantitatif olarak araştırılmıştır. Flavonoid analizinde apigenin, apigenin-7-O-β-glukozid, rutin, vitexin, gallocatekin, naringenin, kemferol, kersetin, luteolin, luteolin-7-O-β-glukozid, vitexin-2''-O-rutinosid; fenolik asitlerden ise klorojenik, protokateşik, rosmarinik, elajik, stearik, *p*-kumarik, ferulik, galik, kafek, silyagin ve vaniljik asit standartları kullanılmıştır.

Metanol ekstresinde kalitatif olarak tespit edilen gallocatekin için kantitatif analiz yapılmıştır. İzogallocatekin çözeltileri (0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,1 ve 0,25 mg/ml konsantrasyonlarında) hazırlanmış ve üçer kez enjekte edilerek 210 nm'deki pik alanları konsantrasyonlarına karşı bir grafik oluşturularak kalibrasyon grafiği ve denklem elde edilmiştir. Ekstre, 10 mg/ml konsantrasyonunda hazırlandıktan sonra 0,45 µm membran filtreye ile süzülerek YPSK cihazına üçer kez enjekte edilmiştir.

Tespit edilen standart maddelerin Limit of Detection (LOD) ve Limit of Quantitation (LOQ) değerleri sinyal/gürültü oranı sırasıyla 3 ve 10 olacak şekilde hesaplandı.

Tablo 3.4. Metanol ekstresinde YPSK analizlerinde kullanılan gradient elüsyon sistemi

Zaman (dk)*	%0,2 o-fosforik asit içeren bidistile su (%)	Asetonitril (%)	Akış Hızı (mL/dak)	Kolon sıcaklığı(°C)
0.00	85	15	1	40°C
30.00	70	30	1	40°C
30.01	70	30	1	40°C
40.00	0	100	1	40°C
42.00	85	15	1	40°C

3.3.5. LC-MS Q-TOF Uygulamaları

Numunenin aktif bileşenlerinin belirlenmesi için sıvı kromatograf yüksek çözünürlüklü uçuş zamanlı kütle spektrometre LC-MS Q-TOF sistemi ile gerçekleştirilmiştir. Agilent 1290 serisi YPSK sistemi ve bu sisteme bağlı Agilent 6530B Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometre cihazı kullanılmıştır (Agilent Technologies, Inc., CA, USA). Elektrosprey iyon kaynağı ile negatif ve pozitif modda gerçekleştirilmiştir. Kromatografik ayırma için Agilent Poroshell C-18 (3.0mm x 100 mm x 2.7 µm) kolon kullanılmıştır. Analiz ve değerlendirilmelerde Agilent MassHunter Yazılım B06.00, Metlin Metabolit veritabanı, PubChem, FooDB ve literatür verileriyle karşılaştırılarak eşleşme ve tanımlamalar sağlanmıştır. Elde edilen ana iyon değerleri ile örtüşen madde olasılıkları, parçalanma iyonları ile değerlendirilerek tanımlama işlemi yapılmıştır. HPLC ve MS parametreleri aşağıdaki tablo 3.5 de detaylandırılmıştır.

Tablo 3.5. HPLC ve MS analizlerinde kullanılan gradient elüsyon sistemi

Kolon	Agilent Poroshell C-18 (4.6mm x 100 mm x 2.7 µm)
Kolon Fırını	35 °C
Enjeksiyon hacmi	5 µL
Analiz süresi	32 dk.
Mobil Faz A	% 0,1 formik asit su
Mobil Faz B	Asetonitril
Akış	0,6 ml/dk
Akış programı	0 dk- 5% B
	1 dk- 5% B
	6 dk- 20% B
	18 dk- 70% B
	20 dk- 90% B
	26 dk- 90% B
	26.1 dk- 5% B

	32 dk- 5% B
İyonlaşma modu	Negatif mod Pozitif mod
Kurutucu gaz sıcaklığı	325 °C
Kurutucu gaz akış, N2	11 L/dk
Nebulizer	35 psi
Kapiler Voltaj	2000 V
Kütle okuma aralığı	30-1700 amu
Referans iyonlar	966,000725, 922,0098

3.4. AntOoksOdan AktOvOte TayOnO

Demgr (III) İndgrgeygcg Antgoksgdan Güç (FRAP), 2,2'-azgno-bgs (3-etglbenzotgazolgn-6 sülfongk asgt) (ABTS), 2,2-Dgfenl-1-pgkrgl hgdrzgl (DPPH) antgoksgdan aktvgvtelerg değerdndrglmgştgr. Bu analgzler, örneklergn antgoksgdan özellgknergng farklı mekangzmalarla değerdndrmek amacıyla gerçektştgrglmgştgr. FRAP, örneğgn demgr (III) gyonlarını gndgrme yeteneğg ölçülerek, ABTS (2,2'-azgno-bgs (3-etglbenzotgyazolgn-6-sülfongk asgt)), radgkal gndrgeme kapasgtesg ölçülerek ve DPPH, DPPH radgkalg gle reaksgyona ggrme yeteneğg değerdndrglerek antgoksgdan aktvgvtelerg belgrlenmgştgr.

3.4.1. ABTS Serbest RadOkalOnO Süpürücü AktOvOte TayOnO

B. turc;cus metanol, su, etgl asetat, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerngn ABTS serbest radgkalng süpürücü etklerg stabgl radgkalgn renggng ggderme yeteneklerg gle ölçülmüştür (Re ve ark., 1999). 7 mM ABTS sulu çöztgsg, 2.45 mM potasyum persülfat gle reaksgyona sokulmuş ve ABTS radgkal katyonunun oluşması sağlanmıştır. Her çalışma gçgn taze çöztg hazırlanmıştır. Elde edglen çöztg kullanılmadan önce 12-16 saat boyunca karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletglmgş, sonrasında etanol gle dglüe edglmgştgr. Farklı konsantrasyonlardakg (0.001-0.5 mg/ml) bgtkg ekstrelerg ABTS+ çalışma çöztgsg gle (100x) seyreltglmgştgr. Çöztgler 6 dakgka oda sıcaklığında bekledgkten sonra 734 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır. Her deney en az 3 tekrarlı yapılmıştır. Referans madde olarak trolox

kullanılmıştır. Bgtdg ekstrelergngn ABTS serbest radgkalng süpürücü aktvgtesg aşağıdakg formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ gnhbgasyon} = [(\text{Absorbans}_{\text{Kontrol}} - \text{Absorbans}_{\text{Standart/Numune}}) / \text{Absorbans}_{\text{Kontrol}}] \times 100$$

Farklı konsantrasyonlardakg bgtdg ekstrelergngn % gnhbgasyon değlerlg kullanılarak her bgr ekstre gçgn kalbrasyon grafgğg çgzglmgş ve yarı maksimum gnhbgasyon konsantrasyonları (IC₅₀) hesaplanmıştır.

3.4.2. DPPH Serbest RadOkalOnO Süpürücü AktOvOte TayOnO

B. turc;cus metanol, su, etgl asetat, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelergngn DPPH serbest radgkalng süpürücü etglerlg stabgl radgkalng menekşe/mor renggng ggderme yeteneklerlg gle ölçülmüştür. Yöntem, ekstrelerlg DPPH serbest radgkalng gle oluşturdıkları renggn 517 nm’de ölçümüne ve standart madde gle karşılaştırılmasına dayanmaktadır (Blogs, 1958). Çalışma çöztgsg 100µM DPPH (metanolde) ve farklı konsantrasyonlardakg (0.001-0.5 mg/ml) bgtdg ekstrelergng geçermektedir. Çalışma çöztglerlg oda sıcaklığında 30 dakgka gnkübe edglmgş, ardından 517 nm’de spektrofotometrgk absorbans ölçümü yapılmıştır. Bgtdg ekstrelergngn DPPH serbest radgkalng süpürücü etkgsg, radgkal redüksiyonunun yüzdesg olarak hesaplanmıştır. Her deney en az 3 tekrarlı yapılmıştır. Referans madde olarak BHT (Butgl Hgdrokslg Toluen) kullanılmıştır. Bgtdg ekstrelergngn DPPH serbest radgkalng süpürücü aktvgtesg aşağıdakg formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ gnhbgasyon} = [(\text{Absorbans}_{\text{Kontrol}} - \text{Absorbans}_{\text{Standart/Numune}}) / \text{Absorbans}_{\text{Kontrol}}] \times 100$$

Farklı konsantrasyonlardakg bgtdg ekstrelergngn % gnhbgasyon değlerlg kullanılarak her bgr ekstre gçgn kalbrasyon grafgğg çgzglmgş ve IC₅₀ değlerlg hesaplanmıştır.

3.4.3. FRAP (DemOr III İndOrgeyOcO) AntOoksOdan Güç TayOnO

B. turc;cus’un metanol, su, etgl asetat, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelergngn antgoksgdan kapasgtesgng belgremek amacıyla FRAP yöntemg kullanılmıştır (Youn vd. 2019; Thagpong vd. 2006). FRAP reaktgfg, 300 mM asetat tamponu (pH 3.6), 40 mM hgdroklorgk

asgt gçgnde 10 mM TPTZ (2,4,6-trgpgrgdgl-s-trgazgn) çözeltegsg ve 20 mM demgr (III) klorürün 10:1:1 oranında karışımından oluşmaktadır. FRAP reaktgfg (150 µL), ekstrelergn 1000 µg/mL stok konsantrasyonlarından hazırlanan 20 µL numune gle karıştırılmıştır. Karışım, 37 °C'de karanlık bgr ortamda 30 dakgka boyunca gnkübe edglmgş ve ardından her bgrgngn absorbansı 593 nm'de ölçülmüştür. Referans madde olarak trolox kullanılmıştır. Trolox, 5 farklı konsantrasyonda hazırlanmış ve 593 nm'dekg absorbans değerlerg grafkg üzergne geçgrglerek trolox kalgbrasyon grafğğg oluşturulmuştur. Elde edglen sonuçlar Trolox Eşdeğerg Antgoksgdan Kapasgesg (TEAC) olarak gfade edglmgştgr. Her deney en az 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

3.5. In V.tro Hücre Kültürü Çalışmaları

3.5.1. MIA PaCa-2 ve HUC-F Hücre Hattı

3.5.1.1. MIA PaCa-2 ve HUC-F Hücre Hattının ÖzelliklerO

Çalışmamızda pankreatik epgtelyal kanser hücre hattı olan MIA PaCa-2 seçilmiştir. MIA PaCa-2 (ATCC® CRL-1420™), anatomik orjngn pankreas gövde ve kuyruğu olan ve pergaortik bölgeye gnfiltre olmuş pankreas epgtelyal kanser hücre hattıdır (Deer vd. 2010). Epgtelyal morfolojyge sahip MIA PaCa-2 hücreler, hücre kültürü yüzeyne yapışma özelliğg gösteren ve aynı zamanda kümelenme eğiliminde olan adherent hücrelerdir. MIA PaCa-2 hücre hattı A. Yungs ve arkadaşları tarafından, 1975 yılında, 65 yaşında bgr Kafkas kökenli bgr erkekten elde edilen pankreasın tümör dokusundan hazırlanmıştır. Hücre hattı daha önce Amerikn Tür Kültür Koleksiyonundan (ATCC) temin edilmiş olup, laboratuvarımızda optimize protokol ile kültüre edilmiştir.

Kontrol grubu olarak HUC-F (Fibroblast) hücre hattı kullanılmıştır. HUC-F hücre hattı etnik köken Japon olan bgr kadının göbek kordonundan elde edilmiş fibroblast hücreler olup, morfolojik yapı olarak fibroblastlarla aynı özelliklere sahiptir.

3.5.1.2. MIA PaCa-2 ve HUC-F Hücre Hattının Kültüre EdOlmesO

Hücre Kültürü BesOyerO (MedOum) Hazırlanması;

MIA PaCa-2 hücrelerO OçOn besOyerO hazırlanması; 500 mL'lgk DMEM/Hggh Glukoz (HY-SH30243.01) gçergsgnde, 50 mL Fetal Bovgne Serum (FBS) (Bgowest, USA), 5 mL Pengsglgn-Streptomsgn (Sggma Aldrgch, USA) 100U/mL ve 5 mL L-Glutamgne 200 mM eklenerek hazırlanmıştır.

HUC-F hücrelerO OçOn besOyerO hazırlanması; 500 mL'lgk Roswell Park Memorgal Instgtute medgum (RPMI) (RPMI-1640, Sggma Aldrgch, USA) gçergsgnde, 50 mL Fetal Bovgne Serum (FBS) (Bgowest, USA), 5 mL Pengcgllgn-Streptomycgn (Sggma Aldrgch, USA) 100U/mL ve 5 mL L-Glutamgne 200 mM eklenerek hazırlanmış ve +4 °C derecede muhafaza edglmgştgr.

Hücrelergn çözdürölmesg, dondurulması, pasajlanması ve kültüre edglmesg amacıyla kullanılacak besgyerg, stergl 50 mL'lgk falkonlara konularak, kullanım süresgne kadar +4 °C'ye kaldırılmıştır. Bu şekglde 50'lgk falkonlarda kullanıma hazır edglen besgyerg, hücre ekgmg yapılacağı zaman, önceden çıkarılarak 37 °C'dekg su banyosunda 20-30 dakgka ısıtılarak kullanılmıştır. MIA PaCa-2 kanser hücrelerg %10 FBS, %1 pengsglgn + streptomsgn gçeren NaHCO₃ solüsyonu, %1 L-glutamgn gle desteklenmgş DMEM/Hggh besg ortamında, HUC-F hücre hattı gçgn %10 FBS, %1 pengsglgn + streptomsgn gçeren, %1 L-glutamgn, gle desteklenmgş RPMI besg ortamında, %5 CO₂ gçeren 37 °C sıcaklıktakg nemlendrglmgş havaya sahgp Nuagre NU-5800 model gnkübatörde %80- 90 konfuluent oluncaya kadar gnvert mgkroskopta (Legca, Dmgl Led Fluo) gle gözlenmgştgr.

3.5.1.3. HücrelerOn Kontrolü

Hücreler, deneyler boyunca kullanılan 25 cm² ve 75 cm²lgk flasklarda, 37 °C sıcaklık ve %5 kısmg CO₂ basıncı altında çoğaltılmıştır. Deney süresgnece kullanılan flasklar, kryo tüpler ve plakların üzergne, gçerdgkclerg hücre hattı adı, pasaj numarası, çalışan kgşg ve targh bglgglerg güncel olarak not edglmgştgr. Bu önemlg bglgglerg, deneylergn takgbg ve sonuçların güvenglgrlgğg açısından kaydedglmgştgr. Hücreler, her gün makroskobgk ve mgkroskobgk olarak

kontrol altında tutulmuştur. Makroskobik kontrolde, büyüme ortamında salgılanan metabolik atıklar veya kontaminasyon nedeniyle oluşan pH değışiğı sebebiyle gözlemlenen bulanıklık belirlenmiştir. Değişen pH nedeniyle ortamın renginde meydana gelen kırmızıdan sarıya dönüş gibi renk değışiklikleri düzenli olarak gözlenmiştir. Makroskobik incelemede ise hücrelerin yoğunluğu ve morfolojisi kontrol edilmiştir. Bu aşamada, kontaminasyon belirtileri veya hücrelerin normal gelişiminden sapmalar gözlemlendiğinde gerekli önlemler alınmıştır. Kontaminasyona uğrayan flasklar, ağzı kapalı bir şekilde ortamdan uzaklaştırılmıştır.

3.5.1.4. Hücre Besi Ortamı Değişikliği

Makroskobik ve mikroskobik inceleme sonrasında kontaminasyon belirlenmeyen flasklar pasajlanmıştır. Hücre yoğunluğu % 80'e ulaşmamışsa, sadece besiyeri değiştirme işlemi gerçekleştirilmiştir, pasajlama yapılmamıştır. Besiyeri değiştirme sırasında, flask içindeki besiyeri herhangi bir yere temas ettirilmeden, pipet yardımıyla atık kabına uzaklaştırılmıştır. Ardından, 25 cm²'lik flasklar için taze hazırlanan besiyerinden 4 ml, 75 cm²'lik flasklar için ise 10 ml konularak besiyeri değiştirilmiştir. Bu işlem, hücrelerin sağlıklı bir ortamda büyümelerini ve çoğalmalarını sürdürebilmeleri için önemli bir adımdır.

3.5.1.5. Hücrelerin pasajlanması

Hücre pasajlama işlemi için, flasklarda bulunan büyüme ortamı, kontaminasyon riskini en aza indirecek şekilde mikropipet kullanılarak kuyudan alınmıştır. Daha sonra hücreler, glikoz 1X DPBS (Sigma Aldrich, ABD) ile yıkanmış ve ardından önceden 37 °C'de ısıtılmış 0,25% Trypsin-Edta solüsyonu 25 cm²'lik flaska 2 ml, 75 cm²'lik flaska 4 ml eklenerek flask yüzeyine eşit şekilde dağıtılmıştır. Flasklar, 37 °C'de ve %5 CO₂ geçen inkübatörde 5 dakika boyunca inkübasyona alınmıştır. Inkübasyonun ardından, flask yüzeyi hücrelerin ayrılıp ayrılmadığını belirlemek için makroskobik ve mikroskobik olarak kontrol edilmiştir. Hücreler yeterince ayrılmamışsa, flask kenarlarına hafifçe vurularak hücrelerin zarar görmeyecek şekilde ayrılma süreci hızlandırılmıştır. Hücrelerin flask yüzeyinden tamamen ayrıldığından emin olunduktan sonra, flask içindeki trypsin-hücre süspansiyonu steril bir 15 ml falkon tüpe aktarılmıştır. Daha sonra süspansiyonun üzerine glikoz katı kadar büyüme ortamı eklenerek trypsinin nötrleşmesi sağlanmıştır. Steril tüp, 1200 rpm'de 5 dakika veya

1500 rpm'de 3 dakgka süresgnce santrgfüj edglmgştgr. Santrgfüj gşlemg sonrasında supernatant uzaklaştırılmış, kalan pellet taze besgyerg gle süspansgyon halgne getgrglgp sterl bgr flask gçergsgne pasajlama gşlemg gerçekleştirgrlmgştgr. İşlem tamamlandıktan sonra flasklar, 37 °C'de ve %5 CO₂ gçeren gnkübatöre yerleştgrlmgştgr.

3.5.1.6. HücrelerOn Dondurulması ve Saklanması

Flask gçergsgndekg hücrelergn yoğunluğu % 80'gn üzergnde gse, hücrelerg kaldırmak amacıyla 37 °C'de ısıtılmış %0,25 Trgpsgn-Edta solüsyonu 25 cm²'lgk flaska 2 ml, 75 cm²'lgk flaska 4 ml eklenerek flask yüzeygne eşgt şekglde dağıtılmıştır. Hücrelergn flasktan ayrılması gçgn 37 °C'de %5 CO₂'lg etüvde 5 dakgka gnkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında, flaska trgpsgn gkg katı kadar taze hücre besgyerg glave edglmgştgr. Hücreler bgr falkon tüpe alındıktan sonra, 1500 rpm'de 3 dakgka süresgnce santrgfüj edldg. Santrgfüj gşlemg sonrasında süpernatant uzaklaştırılarak, pellet üzergne 1 ml, 1/9 oranında Dgmetgl Sülfoksgt (DMSO) ve besgyergnden oluşan dondurma solüsyonu glave edglmgştgr. Hücrelergn krgyo tüpe transferg sonrasında tüpler, önce +4°C'de 10 dakgka bekletldg, daha sonra -20 °C'de 120 dakgka bekletldgkten sonra -80 °C'ye çıkarılarak stoklara alınmıştır. Bu gşlemler, hücrelergn dondurulmuş stoklarda uzun vadelg depolanması gçgn yapılmıştır.

Hücre Dondurma Ortamının Hazırlanması; Hücre dondurma ortamı hazırlanırken % 90 FBS, % 10 DMSO kullanıldı ve dondurma ortamı her defasında taze hazırlanarak kullanılmıştır.

3.5.1.7. Dondurulmuş Hücre Hattının Çözülmesi

-80 °C'de krgyo tüpler gçgnde taze hazırlanmış dondurma ortamıyla dondurulmuş olan MIA PaCa-2 ve HUC-F hücre hatları, dondurucudan çıkarıldıktan sonra 37 °C'de ısıtılmalı su banyosunda çözdürülmüştür. Çözülen hücrelere 4 ml besgyerg eklenerek homojengze edglmgş, ardından 1200 rpm'de 5 dakgka boyunca santrgfüj edglmgştgr. Santrgfüj gşlemg tamamlandıktan sonra üstte kalan süpernatant atılmış, kalan hücre pelletg üzergne 12 ml taze besgyerg eklengp homojengze edglmgştgr. Elde edglen süspansgyon, sterl bgr şekglde hazırlanan 75 cm²'lgk flasklara aktarılmıştır.

3.5.1.8. Hücre Sayımı ve Hücre Canlılığının Belirlenmesi

Flask yüzeyindeki hücre konfluens yoğunluğu %80'e ulaştığında, hücrelerin üzerine 2 mL %0,25 Trispsn-Edta solüsyonu eklenerek 37° C ve %5 CO₂ geçen inkübatörde 5 dakika süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Hücreler flask yüzeyinden kalktığında, flaskona alınıp üzerine 4 mL besiyeri eklendi. Falcon, 1200 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüj edilmektedir. Süpernatant atılarak hücrelerin üzerine 2 ml medyum eklendi ve hafifçe pipetleme yapılmıştır. Hücre süspansiyonundan sterili ependorfa 10 µL alınarak, 10 µL %0,4 trpan mavgsg boyası ile karıştırılmıştır. Karışım, oda sıcaklığında 2 dakika süreyle inkübe edilmektedir. Hazırlanan trpan mavgsg-hücre süspansiyonu karışımından pipetleme yapılarak, 10 µL alınarak Thoma lamına yayılmıştır. Trpan mavgsg, ölü hücrelere göre özelliğle sağıdır ve bu nedenle mikroskop altında koyu mav-mat renkte görünen hücreler ölü, açık renkte parlak hücreler ise canlı olarak sayılır. Thoma lamında her bir 16 kareden oluşan 4 sayım bölgesindeki hücreler sayılarak aritmetik ortalamaları alınmıştır. Pergiyodik hücre canlılığı değerlendirilmesinde, hücrelerin kalitesinden bir göstergesidir ve %95'e eşit veya daha büyük canlılık mükemeldir.

$$\text{Canlı hücre oranı (\%)} = \text{boyasız hücre sayısı} / \text{toplam hücre sayısı} \times 100$$

3.5.2. Btk Ekstrelerinin Hazırlanması

B. turgicus'un btk'si hazırlanan metanol, *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve sulu ekstreleri kullanılmıştır. Btk ekstrelerinden 0,1 gram tartılarak, DMSO (Sigma Aldrich, USA) ile çözülüp, 10.000 µg/mL stok konsantrasyonunda olacak şekilde hazırlanmıştır. Elde edilen stoklar, 0,22 µm enjektör kullanılarak süzülüp ve deneysel çalışmalara kadar -20°C'de saklanmıştır.

3.5.2.1. Btk Ekstrelerinin Muamelesi

Deneyde kullanılacak olan konsantrasyonlar (0- 250- 500- 750- 1000- 1250 µg/ml) btk ekstreleri için ayrı ayrı hazırlanmıştır. Kontrol grubu olarak DMEM geçirgen test maddeleri üzerine en yüksek konsantrasyondaki btk ekstre çözeltisi kadar sterili DMSO ilave edilmektedir. 24 saat sonunda %70 yoğunluk elde edilen hücrelerin üzerindeki DMEM

ortamdan uzaklaştırılmıştır. Belirlenen kuyucuklara hazırlanan konsantrasyonlardaki karışımlardan her bir kuyucuğa 500 µL olacak şekilde koyulmuştur. Karışımlar hücelere verildikten sonra hücreler 37 °C’de %5’lik CO₂’lik etüvde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

3.5.3. MTT analizi

MTT yöntemi (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) (Sigma-Aldrich, Germany) canlı hücre sayısını değerlendirmek için kullanılan bir yöntemdir. MTT canlı hücre tarafından alınarak mitokondrial enzimler tarafından indirgenmesiyle dayanan boyama yöntemiyle belirlenecektir.

MTT analizi Önce aşağıdaki basamaklar izlenir:

- Hücreler flask tabanını %85-90 oranında kapladıktan sonra flask tabanında kalan hücreler uygun boyama yöntemiyle sayılarak 1 ml’de bulunan canlı hücre sayısı belirlenecek ve her bir kuyucuğa 1×10^5 hücre gelecek şekilde 24 kuyucuklu plaka ekimi yapılmıştır. 37 °C’de %5’lik CO₂’lik etüvde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.
- Hücrelerin plak yüzeyinde yoğunluğu %50-60 olduğunda *B. turcicus* ekstre 0- 250- 500- 750- 1000- 1250 µg/mL olacak şekilde uygulanmıştır. Kontrol olarak %1 DMSO kullanılmıştır.
- Plak inkübatöre kaldırılıp 37 °C ve %5 CO₂ ortamında 24 ve 48 saat sürelerde inkübasyona bırakılmıştır.
- Ekstre eklendikten 24 ve 48 saat sonra hücreler mikroskopik olarak incelenerek meydana gelen sitopatolojik değişiklikler tespit edilmiştir.
- Mikroplağın 24 ve 48 saatlik inkübasyonundan sonra, besiyeri çekilmiş ve her kuyucuğa hazırlanan MTT solüsyonundan 50 µL ve 450 µL olacak şekilde konularak, hücreler 3 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda hücrelerden MTT

solüsyonu kuyucuklu plaka tabanında oluşan mor renklı formazan krgstallergne zarar vermeden pgpet yardımıyla kuyucuklardan çeklgp uzaklaştırılmıştır.

- Her bgr kuyucuğa 500 µL olacak şekglde DMSO (Sggma- Aldrgch, Germany) eklenmgş ve 30 dakgka oda sıcaklığında plate karıştırıcı (Everlast Rocker 247, Benchmark, USA) kullanılarak karışması sağlanmıştır.
- Her kuyucuğun absorbans değerg, 570 nm'de bgr spektrofotometre (Uvmngn-1240, Shgmadzu, Japonya) kullanılarak 3 tekrarlı olarak ölçümlerg yapılmıştır. Hücre canlılığı yüzdesgngn formülü:
- Hücre canlılığı (%) = (İşlem gören hücrelergn Ort. OD570'g) / (Kontrolün Ort. OD570'g) x 100. Ort: Ortalama, OD570: Optgk yoğunluk
- MTT yöntemgyle elde edglen sonuçlarla MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelerg geçgn IC₅₀ değerg hesaplanmış ve ekstrelergn antgkanser etkglergng belgrleyebglmek geçgn IC₅₀'ngn altında gkg konsantrasyon gle IC₅₀'ye çok yakın bgr konsantrasyon olmak üzere üç farklı doz belgrlenmgştgr. Bu aşamadan sonra yapılacak olan tüm çalışmalar etkgn dozlar üzergnden yürütölmüştür.

MTT 'nOn Hazırlanması; Çalışmada kullanılan MTT solüsyonu 5 µg/mL konsantrasyonun da hazırlanmıştır. MTT' ngn çözdürölmesgnde pH 7,4 olan PBS kullanılmış, hazırlanan MTT çözeltegs 0,22 µm fgltreten geçrglgerek stergl hale getgrglmgştgr. MTT solüsyonu her kullanımda taze hazırlanmıştır.

3.5.4. Hücre MOgrasyon AnalOzlerO OçOn ÇOzOk TestO

Hücre popölasyonunun belgrlg bgr alana yayılmasını gnceleyen ;n v;tro Scratch-yara gygleşme asay (çgzgk testg) hücre mggrasyon çalışmaları, tek tabaka halgndekg hücrelerde yara (çgzgk) oluşturulması temelgne dayanır (Fronza vd. 2009). Yara gygleşme aktgvgtesgng ;n v;tro test etmek geçgn hücrelergn göç kapasgtelergng ve hızlarını gncelemek pek çok araştırmacı tarafından kullanılan, pratgk ve kullanışlı bgr modeldgr. (Adetutu vd. 2011). *B. turc;cus* 'un pankreas kanser hücrelergngn yara kapanma kapasgtesg üzergndekg etkgsgng değerlendrgmek

gçgn *B. turc;cus* ekstresg uygulanmamış standart besgyergnde kültüre edglen hücreler kontrol grubu, *B. turc;cus* metanol, su, *n*-hekzan, kloroform ve etgl asetatekstrelergngn IC₅₀ dozuna 24 saat maruz bırakılan MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelerg gse tedavg grubu olarak çalışılmıştır. Testgn yapılması gçgn aşağıdakg basamaklar gzlendg:

- MTT testg sonucunda belgrlenen *B. turc;cus* ekstrelergngn dozunun yara gygleşmesgne etksgngn gncelenmesg gçgn öncelgkle MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelerg 6 kuyucuklu plaka gçergsgne (her kuyucukta 3×10^5 hücre) olacak şekglde ekglmgş,
- Mgkroplaka 37 °C ve %5 CO₂ ayarlı gnkübatörde 24 saat bekletglerek hücrelergn yüzeye tutunmaları ve çoğalmaları sağlanmıştır. Hücreler %90 oranında konfluens olduğunda, tek tabaka halgndekg hücreler üzergnde sterel 1000 µL pgpet ucu gle çgzgk atılarak (scratch) hücreler arasında yapay bgr boşluk oluşturulmuştur.
- Çgzgk atıldıktan hemen sonra hücreler üzergndekg besgyerg çekglerek kuyucuklara 500 µL Dulbecco's phosphate-buffered salgne (DPBS) (GE Healthcare, USA) konularak, 3 kez yıkanıp kalkan hücreler ortamdan uzaklaştırılmıştır.
- Mgkroplaka gçergsgnde her kuyucuğa 1ml taze besgyerg konularak (MIA PaCa-2-DMEM, HUC-F- RPMI 1640), MTT testg gle belgrlenen bgtkg ekstresngn IC₅₀ dozajları uygulanmıştır. 0., 24., 48. ve 72. saatlerde fotoğraflar çekglerek, yara kapanması tedavg ve kontrol grupları arasında karşılaştırılmıştır.
- Hücreler ve oluşturulan çgzgk 0, 24, 48 ve 72 saatlerde fotoğraflar çekglerek, yara kapanması olarak gruplar ve kontrol aralarında karşılaştırılmıştır. Hücre görüntüsü 10X büyütme gle gnvert mgkroskop (Legca, Dmgl Led Fluo) kullanılarak elde edglmgştgr. Image J software bglggsayar programı kullanılarak, farklı zamanlarda boşluğun gengşlgğg hesaplanmış ve % mggrasyon kapasgtesg belgrlenmgştgr. Yara gygleştrme etkgnlgğg gçgn, 0. saatte oluşturulan boşluğun gengşlgğg referans alınarak hesaplanmıştır (Suarez-Arnedo vd. 2020).

3.5.5. İmmüno Floresans Boyama

- Hücreler sayılarak 6 kuyulu plaka geçergsne 3 tekrarlı olacak şekglde MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelerg besgyergnde 8×10^4 hücre olacak şekglde ekgm yapılmıştır. 48 saat 37 °C ve %5 CO₂ ortamda gnkübasyona bırakılmıştır. 48 saat gnkübasyon sonrasında plakadakg besgyerg aspgre edglerek, her kuyuya 1000 µL taze besgyerg konulmuştur.
- %70 oranında konfluens olduğunda MTT testg gle belgrienen bgtkg ekstresngn dozajları uygulanmıştır. 24 saat 37 °C ve %5 CO₂ ortamda gnkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda hücre ortamı dgkkatlg bgr şekglde aspgre edglmgş ve sabgtlenmgş hücreler PBS gle yıkanmıştır.
- Hücre sabgtlenmesg gçgn, 750 µL PBS'de % 4 (v/v) paraformaldehgd eklenmgş ve oda sıcaklığında 30 dakgka boyunca gnkübe edglmgştgr. Ardından solüsyon aspgre edglgd ve PBS gle 2 kez yıkanmıştır.
- Geçrgrenlgğg arttırmak gçgn sabgt hücreler Trgton-X 100 gle PBS'de (% 0,1; v/v) en az 10 dakgka boyunca permeablgte edglmgştgr. Süre sonunda PBS gle 2 kez yıkanmıştır.
- **Boyaların hazırlanışı;** Hücrelergn aktgn fglamentlergng boyamak dışında, hücre çekgrdeğng boyamak gçgn DAPI (4',6-dgamgdgno-2 fenglndol) boya kullanılmıştır. Bu amaçla, DAPI boya 1/1000 (v/v) oranında PBS'de hazırlanmıştır. Alexa Fluor 594 phallogdgn boya, % 1 Bovgne Serum Albumgn (BSA; w/v) gle PBS-T'de (PBS gle Tween 20) 1/1000 oranında (v /v) hazırlanmıştır.
- Fgkse edglen hücrelergn her kuyucuğuna Mgkrofglament ve çekgrdek boyaması gçgn 350 µL 1X phallogdgn çalışma solüsyonu ve 350 µL DAPI çalışma solüsyonu eklenmgş, 30 dakgka 37 °C'de, %5 CO₂'lg ortamda gnkübasyona bırakılmıştır.
- Fazla 1X phallogdgn ve DAPI konjugatını çıkarmak gçgn PBS gle 2 kez yıkanmıştır. Her kuyucuğa 500 µL PBS konularak, floresan mgkroskop altında 20X büyütme gle görselleştgrglmgştgr (Dmgl Led Fluo, Legca, Germany).

3.5.6. Hücre Apoptoz Analizleri Açık Kaspaz-3 Aktivite Testi

Apoptoz süreci başlamasında sorumlu kaspaz-3 enzimlerinin aktivitesi, hücreler apoptozu uğradıklarında artmakta ve enzimlerinin aktivitesinin ölçümü ile hücrelerin apoptoz durumu hakkında bilgi sağlanmaktadır. *B. turcicus* metanol, su, *n*-hekzan, kloroform ve etil asetat ekstraktlarının pankreas kanser hücreleri MIA PaCa-2 ve kontrol grubu HUC-F hücrelerinde kaspaz-3 aktivitesinin apoptoz üzerindeki etkisini araştırmak için kaspaz-3 enzim aktivite düzeyi için kullanılan "Caspase-3-aktivite assay kit" (Roche, Switzerland) kullanılarak değerlendirilmiştir (Liang vd. 2007). *B. turcicus* pankreas kanser hücrelerinde apoptoz üzerindeki etkisini değerlendirmek için *B. turcicus* ekstraktı uygulanmamış standart besiyerinde kültüre edilen hücreler kontrol grubu, *B. turcicus* metanol, su, *n*-hekzan, kloroform ve etil asetat ekstraktlarının IC₅₀ dozuna 24 saat maruz bırakılan MIA PaCa-2 ve HUC-F hücreleri ise tedavi grubu olarak çalışılmıştır.

- Hücreler ekildikten 24 saat sonra hücelere *B. turcicus* metanol, su, *n*-hekzan, kloroform ve etil asetat ekstraktlarının IC₅₀ dozuna 24 saat maruziyetten sonra öncelikle besiyer ortamı aspirasyonla uzaklaştırılıp, hücreler Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline (DPBS) ile yıkanmıştır.
- Daha sonra 500 µL trpsin eklendi 37 °C inkübatöre kaldırılmıştır. Ardından 5 dakika sonra hücrelerin kalktığı mikroskopta gözlemlendikten sonra her kuyucuğun içine 1 mL medyum ile 1,5 mL'lik ependorf tüplere toplanmıştır.
- 1.100 rpm'de 3 dakika santrifüj edilip süpernatant atılmıştır. Pellet üzerine 1 mL soğuk 1X PBS eklenerek hücreler pipetajla yıkanmıştır.
- 1.100 rpm'de 3 dakika santrifüj edilerek süpernatant atılmıştır. Pellet üzerine 200 µL 1X DDT eklendi ve hücreler pipetajla çözülürülerek, 1 dakika buz üzerinde inkübe edilmiştir. Daha sonra 15.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilerek, 100-200 µL süpernatant analiz için ayrı tüplere alındı ve -20 °C'de saklanmıştır.

Solüsyonların Hazırlığı:

CoatOng Buffer (10X): 1X yapmak için 1 mL coatngn buffer, 9 mL ddH₂O ile çözülmüştür.

Antg-Caspase-3 (20X): Kullanılmadan önce 1:20 oranında coatngn buffer ile seyreltilmiştir.

Blockngn buffer: 25 mL şgşesgnde kullanıma hazırdır. **İncubatgon buffer (5X):** 1X yapmak için 50 mL gncubatgon buffer, 200 mL ddH₂O ile sulandırılmıştır.

DDT (100X): 1X yapmak için 10 µL DDT, 990 µL gncubatgon buffer ile çözülmüştür.

Substrat solüsyonu (20X): 1X yapmak için 1:20 oranında DDT ile sulandırılmıştır.

AFC solüsyonu: 1 mM solüsyon, 1X substrat solüsyon ile dglüsyonları hazırlanarak kullanılmıştır.

- **MTP Kaplama:** MTP plakasının her kuyusuna 100 µL Antg-Caspase-3 Coatngn solusyonu eklenerek, folyo ile sıkıca kaplandı ve 37 °C’de 1 saat gnkübe edlmgstgr. İnkübasyon sonunda solüsyon uzaklaştırılıp ve kuyucuklara 200 µL Blockngn buffer eklenmgstgr. MTP yapışkan kapak ile sıkıca kapatılıp ve 15- 25 °C’de 30 dakgka gnkübe edlmgstgr. Ardından Blockngn buffer tamamen uzaklaştırılıp kuyucuklar 3 kez 200 µL 1X Incubatgon buffer ile yıkanarak kaplama gşlemg tamamlanmıştır.
- **Proteaz AktOvOtesO AnalOzO:** Kuyucuklara 100’er µL örnek eklendg ve MTP üzerg yapışkan folyo ile kaplanarak, 37 °C’de 60 dakgka gnkübe edlmgstgr. Örnekler tamamen uzaklaştırılıp kuyucuklar 3 kez 200 µL 1X Incubatgon buffer ile yıkanarak, 100 µL 1X Substrate solusyonu eklenmgstgr. Ardından florometrgk okuma yapılmıştır. Bu glk okumaya “T0” olarak gsgmlendgrglgr. Okuma için excgatgon fglter 370-425 nm ve emgsyon fglter 490-530 nm (maxgma ex: 400 em: 505) kullanılmıştır. Ardından MTP üzerg yapışkan folyo ile kaplanarak, 37 °C’de 120 dakgka gnkübe edldgkten sonra tekrar ölçüm yapılmıştır. Bu gkgncg ölçüm “T1” olarak gsgmlendgrglgr ve T1 dekg değgşgm hesaplanmıştır.
- **Kaspaz-3 AktOvOte AnalOzO:** AFC solüsyonu substrat solüsyonu ile dglue edglerek aşağıdakg standartlar hazırlanmıştır. Daha sonra bu standartlardan her bgrgnden gkg kuyucuğa 100 µL eklenerek florometrgk ölçüm yapılmıştır.

- 50 µM gçgn: 250 µL AFC
- 25 µM gçgn: 125 µL AFC + 125 µL substrat solüsyonu
- 10 µM gçgn: 50 µL AFC + 200 µL substrat solüsyonu
- 1 µM gçgn: 5 µL AFC + 245 µL substrat solüsyonu
- 0.5 µM gçgn: 5 µL AFC + 495 µL substrat solüsyonu
- 0 µM gçgn: 200 µL substrat solüsyonu

■ **Sonuçların AnalOzO:** Florometrgk okuma gle elde edglen T0 ve T1 değerlerg kullanılarak aşağıda verglen Denklem 1'e göre göre her örnek gçgn ayrı ayrı ΔFU değerg hesaplanmıştır. Daha sonra standartların florometrgk okuma değerglerg gle grafğğgn eğgmğ hesaplanmıştır. Herbgr örnek gçgn Kaspaz-3 aktvgvtesg aşağıdakg Denklem 2'ye göre hesaplanmıştır.

- $\Delta FU = (\text{Örnek gçgn T1 FU} - \text{Blank gçgn T1 FU}) - (\text{Örnek gçgn T0 FU} - \text{Blank gçgn T0 FU})$ (Denklem 1)
- **Kaspaz-3 aktOvOtesO** = $(\Delta FU / 120) / \text{eğgm}$ (Denklem 2)

3.5.7 qRT-PCR AnalOzO Ole Hücrelerde CASP-3, BAX ve BCL-2 GenlerOnOn mRNA Ekspresyon DüzeyOnOn DeğerlendOrOlmesO

Apoptozgs gle glğşkglg major yolaklarda yer alan CASP-3, BAX ve BCL-2 genlergngn, mRNA düzeygndekg ekspresyonu hücrelergn apoptozgs durumuna glğşkggn bglgg sağlamaktadır. *B. turc;cus* metanol, su, *n*-hekzan, kloroform ve etgl asetat ekstrelergngn pankreas kanser hücrelergnde apoptoz üzergndekg etkgsgng araştırmak gçgn CASP-3, BAX ve BCL-2 genlergngn, mRNA düzeygndekg ekspresyonu qRT-PCR yöntemg gle değerlendrglmğştgr. *B. turc;cus* pankreas kanser hücrelergnde apoptozgs üzergndekg etkgsgng değerlendrgmek gçgn *B. turc;cus* ekstresg uygulanmamış standart besgyergnde kültüre edglen hücreler kontrol grubu, *B. turc;cus* metanol, su, *n*-hekzan, kloroform ve etgl asetat ekstrelergngn IC₅₀ dozuna 24 saat maruz bırakılan MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelerg gse tedavg grubu olarak çalışılmıştır.

3.5.7.1. Total RNA İzolasyonu

Total RNA izolasyonu için tgcarg bgr kgt olan gllustra™ RNAspgn Mgng RNA Isolatgon Kgtg (25-0500-71) kullanılmıştır. **Protokol OçOn aşağıdakO basamaklar takOp edOldO:**

- 6 well plate ççergsgnde bulunan hücreler trgpsgn gle yüzeyden kaldırılarak falkona konulmuştur. 5000 rpm’de 3 dakgka boyunca santrgfüj yapıldıktan sonra supernatant aspgre edglgp pellet bırakılmıştır.
- Pellet 500 µL PBS gle yıkanmıştır. 5000 rpm’de 1 dakgka boyunca santrgfüjlenmgştgr. Süpernatantı aspgrasyonla tamamen atılmıştır.
- Üzergne 350 µL Lgzgs Solüsyonu ve 3,5 µL β-merkaptolanol eklenmgştgr. Hücreyg doğrudan parçalamak ççgn yukarı ve aşağı pgpetlenmgştgr.
- Fgltrasyon ççgn Lgzat RNAspgn Mgng Fgltresgne aktarılıp, RNAspgn mgng fgltresg bgr toplama tüpüne yerleştrgrlmgştgr.
- 1 dakgka boyunca 11000 × g’de santrgfüjlenmgştgr. RNAspgn mgng fgltresg atılıp toplama tüpü ççergsgndekg süzüntü yeng bgr 1,5 ml RNaz ççermeyen mgkrosantrgfüj tüpüne aktarılmıştır.
- 350 µL etanol (%70) eklengp vortekslenerek karıştırılmıştır. (Etanol glavesgnden sonra sert bgr çökeltg görünür hale geldg. Tüm çökeltg kolona yüklenmgştgr.)
- Lgzat 2 gla 3 kez yukarı ve aşağı pgpetlengp, ardından lgzat RNAspgn mgng kolona yüklenmgştgr. (Etanol glavesgnden sonra sert bgr çökeltg görünür hale geldg. Tüm çökeltg kolona yüklenmgştgr.)
- 8000 × g’de 30 sangye santrgfüjlenmgştgr. Toplama tüpü atılarak kolon yeng bgr toplama tüpüne aktarılmıştır. (RNAspgn mgng kolunun maksgmum yükleme kapasgtesg 750 µL’dgr)

- Desaltngn gçgn 350 µL Desaltngn Buffer eklenmgştr. Membranın kuruması gçgn 1 dakgka boyunca 11000 x g'de santrgfüjlenererek toplama tüpü gçergsgndekg buffer döküldü ve RNAspgn mgng kolonu toplama tüpüne gerg koyulmuştur. (Tuzun uzaklaştırılması, sonrakg DNase sgndgrgmngn çok daha etkglg hale getgrecektgr. Sütun çıkışı sıvıyla herhangg bgr nedenle temas ederse, sıvıyı atın ve 11 000 × g'de 30 sangye boyunca tekrar santrgfüjlengr.)
- DNase I reaksgyon karışımını her gzolasyon gçgn sterel bgr mgkrosantrgfüj tüpünde hazırlanmış, 10 µL sulandırılmış DNase I gla 90 µL DNase Reactgon Buffer eklenmgştr. Tüp hafgfçe vurularak karıştırılmıştır.
- 95 µL DNase I reaksgyon karışımı doğrudan kolonun sglgka membranının merkezgne uygulanmıştır. Oda sıcaklığında 15 dakgka gnkübe edglmgştr.
- 1. yıkama gçgn, RNAspgn mgng kolona 200 µL Wash Buffer I eklenmgştr. 11000 × g'de 1 dakgka santrgfüjlengp kolon yeng bgr toplama tüpüne yerleştrgrlmştr. (Yıkama Tamponu DNaz'ı gnaktgve etmgştr.)
- 2. yıkama gçgn, RNAspgn mgng kolonuna 600 µL Wash Buffer II eklenmgştr. 11000 × g'de 1 dakgka santrgfüjlengp, sıvı atıldı ve kolon toplama tüpüne gerg yerleştrgrlmştr.
- 3. yıkama gçgn RNAspgn mgng kolonuna 250 µL Wash Buffer II eklenmgştr. Membranı tamamen kurutmak gçgn 11000 × g'de 2 dakgka santrgfüjlengp, kolon nükleaz geçermeyen 1,5 ml mgkrosantrgfüj tüpüne yerleştrgrlmştr.
- Elusyon gçgn RNA 100 µL RNaz geçermeyen H₂O gçgnde elue edgldg ve 1 dakgka boyunca 11 000 × g'de santrgfüjlenmgştr (Yüksek vergm gerekgyorsa, başka bgr 100 µL RNaz geçermeyen H₂O gle gkgncg elüsyon yapılabglr.)
- Ayırıştırılmış RNA, potansgyel bozulmayı önlemek gçgn hemen buz üzergne yerleştrgrlmştr. Kısa sürelg depolama gçgn -20 °C'de saklanmıştır.

3.5.7.2 Total RNA Miktarının Ölçümü

Hücrelerden izole edilen total RNA'ların konsantrasyon ölçümleri için NanoDrop 2000c (Thermo Scientific, ABD) kullanılmıştır. Ölçüm sırasında RNA'lar buz banyosunda bekletilmiştir. Ölçümler için cihazın RNA modunda RNA'yı çözmek için kullanılan DEPC Treated Water "Blank" olarak okutulmuştur. Nükleik asit konsantrasyonu için çözünen RNA'dan 2 µL kullanılarak, 230 nm, 260 nm ve 280 nm dalga boylarında Absorbans (Abs) ölçümü yapılmıştır. Kalite standardı olarak Abs260/Abs280 oranının 1,8'den, saflık standardı olarak ise Abs260/Abs230 oranının 2'den yüksek olmasına dikkat edilmiştir. RNA konsantrasyonu Abs260 nm'de ölçülerek değerlendirilmiştir. Ölçümü tamamlanan izole total RNA'lar -80°C'de (Nugre, UK) muhafaza edilmiştir (Glasel, 1995).

3.5.7.3. cDNA Sentezi

İzole edilen RNA'lar amplifikasyon çalışmalarında kullanılmak üzere cDNA (kalıp, complementary DNA) formuna çevrilmiştir. RNA'ların cDNA formuna çevrilmesi için ProtoScript II First Strand cDNA Synthesis Kit (NEB #E6300S/L, New England Biolabs Inc., USA) kullanılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce, ölçüm sonuçlarına göre cDNA formuna çevrilecek tüm RNA örnekleri 1 µg'a eşitlenmiştir. Öncelikle kit banyosunda bulunan tüm malzemeler buz üzerinde çözülmiştir. Çözünmüş reaktiflere kısa süreli spinnat verilmiştir. İlk olarak tablo 3.6'daki bileşenlerden oluşan steril RNaz geçirmeyen tüp hazırlanmıştır.

Tablo 3.6. RNA örnekleri ve cDNA Primerleri miktarları

Reaktif	Miktarı
RNA sample	1 µg (1–6 µL)
Anchored oligo d(T)23 VN Primer (50 µM)	2 µl
Nuclease-free H ₂ O	Toplam miktarı 8 µl olacak şekilde ayarlanır
Toplam Volüm	8 µl

Her bgr RNA örneğg gçgn ayrı tüpte tablo 3.6'dakg karışım buz üzergnde hazırlanmıştır. Daha sonra tüpler SureCycler 8800 Thermal Cycler (Agglent, USA) cghazında 70°C'de 5dk gnkübe edglerek denatüre edglmgştgr. Bu gşlem long mRNAs ve GC-rgch RNA bölgelerg gçgn cDNA vergmgng artırmaktadır. İnkübasyon sonrasında tüplere kısa sürelg spgn attırılarak, tekrar buz üzergne alınmıştır. Bu aşamadan sonra ayrı bgr sterel RNaz gçermeyen tüpte tablo Tablo 3.7'dekg reaktgflerden her bgr örnek gçgn karşılardakg mgktarlarda hazırlanmıştır. Ayrıca negatgf kontrol tüpü gçgn de Tablo 3.8'dekg reaktgflerden karşısındakg mgktarda hazırlanmıştır.

Tablo 3.7. cDNA enzgm karışım bgleşenlerg ve mgktarlari

Reaktif	Miktari (µL)
M-MuLV Reaction Mix (2X)	10
M-MuLV Enzyme Mix (10X)	2
Toplam Volüm	12

Tablo 3.8. Negatgf kontrol gçgn bgleşenler ve mgktarlari

Reaktif	Miktari (µL)
M-MuLV Reaction Mix	10
H ₂ O	2
Toplam Volüm	12

Tablo 3.8'de verglen bgleşenlerden hazırlanan karışım pgpetajla karıştırılarak, glk hazırlanan 8 µL'lgk RNA-prgmer karışımı bulunan tüplere her bgr tüpe 12 µl olacak şekglde dağıtılmıştır. Bu gşlem sonunda her bgr tüpte total volüm 20 µl olacak şekglde RNA- enzgm karışımı oluşturulmuştur. Negatgf kontrolle bgrlgkte tüpler SureCycler 8800 Thermal Cycler (Agglent, USA) cghazına yerleştgrglmgş, sırasıyla 25 °C'de 5 dk, 42 °C'de 60 dk, ve enzgm-gnaktgvasyonu gçgn 80 °C'de 5 dk gnkübe edglmgştgr. İşlem sonunda örnekler cghazdan alınmış ve -20 °C derecede muhafaza edglmgştgr.

3.5.7.4. GradOent PCR

Prgmerlergn bağlanma sıcaklıklarını belgrlemek amacıyla öncelgkle hedef genlerg gçgn Gradgent PCR çalışması yapılmıştır. Bu bağlamda örnek hücrelergnden elde edglmgş, kalgtesg yüksek RNA'dan sentezlenmgş cDNA'lar kullanılmıştır. Hedef gengn amplgfgkasyonu gçgn aşağıdakg prgmer dgzglerg kullanılmıştır.

BAX

Forward 5'-GTCCAATGTCCAGCCCATGA-3'

Reverse 5'-AGCTGAGCGAGTGTCTCAAG-3'

BCL-2

Forward 5'-CGGGAGATGTCGCCCCCTGGT-3'

Reverse 5'-GCATGCTGGGGCCGTACAGT-3'

CASP-3

Forward 5'-CCTCAGAGAGACATTCATGG-3'

Reverse 5'-GCAGTAGTCGCCTCTGAAGA-3'

One Taq 2X Master Mgx wgtth Standard Buffer (M0482S, New England Bgolabs Inc., USA) kgt gçergsgnde bulunan Buffer Master Mgx, forward ve reverse prgmer ependorf tüpüne tabloda belgrtglen mgktarlarda konulmuştur (Tablo 3.8). 1 µg DNA olması gçgn alınacak DNA mgktarı belgrlenmgş ve daha önceden hücrelerden elde ettgğmgz cDNA kullanılmıştır. DNA hacmg hesaplanıp DEPC gle 2 µL'ye tamamlanmıştır. Her tüp gçergsgnde toplam 25 µL çözeltg olacağı gçgn kalan mgktar DEPC gle tamamlanmıştır. Deneygn tamamı buz üzergnde gerçekleşmgştr.

Tablo 3.9. PCR çalışması gçgn gereklg bgleşenler ve mgktarları

Bileşenler	Miktarı (µl)
Buffer Master Mix	12,5
20 pmol Forward Primer	0,5
20 pmol Reverse Primer	0,5
cDNA	2
DEPC Water	9,5

SureCycler 8800 (Agglent Technologies, ABD) PCR cghazı kullanılarak tabloda belgrtglen koşullarda program ayarlanmış ve programda toplam hacgm 25 μ L olarak ggrglmgştgr (Tablo 3.9). “Run” seşeneğg seçglerek reaksgyon başlatılmıştır. Reaksgyon sonrasında products -20 $^{\circ}$ C’ye kaldırılmıştır.

Tablo 3.10. PCR reaksgyonu parametrelerg

Reaksiyon	Sıcaklık ($^{\circ}$ C)	Zaman	Döngü
Sıcak başlatma	94	3 dakika	1
Denatürasyon	94	1 dakika	1
Denatürasyon	94	1 dakika	35
Primer başlanma	60	1 dakika	35
Uzama	72	1 dakika	35
Son uzama	72	10 dakika	1

3.5.7.5. Agaroz Jel ElektroforezO

Gradgent PCR ęalıřması sonucunda amplgfgye edglen DNA moleküllergngn görüntülenmesg gęgn agaroz jel elektroforezg kullanılmıştır. Agaroz jel elektroforezgnde hem jelgn hazırlanması gęgn hem de jelgn yürütüleceğg tankta kullanmak gęgn tampon ęözeltg olarak önelgkle 10X Trgs Borgk Asgt EDTA (TBE) aşağıdakg şekglde hazırlanmıştır:

10X TBE ęözeltOsO: 54 g Trgs (Hgdroksmetgl) Amgnometan (Trgs) (77-86-1, Sggma- Aldrgch, Germany), 27,5 g Borgk asgt (10043-35-3, Sggma-Aldrgch, Germany) ve 7,44 g Etglendgamngtetraasetgk asgt (Na₂EDTA) (6381-92-6, Sggma-Aldrgch, Germany) tartılmıştır. Tartılan kgmyasallar saf suda ęözünmesg gęgn manyetgk karıştırıcıya konulmuştur. PH 8.3’e ayarlandıktan sonra saf su gle 1 lgtreye tamamlanmıştır. Tampon ęözeltgsg oda sıcaklığında bekletglmgştgr.

- 0.5X TBE elde etmek gęgn 10X TBE tamponundan 50 mL alınarak saf su gle 1 lgtreye tamamlanmıştır.

- 2 jel gçgn toplamda 60 mL 0.5X TBE tamponu kullanılacaktır. %2'lgk agaroz jel hazırlamak gçgn 1,2 g agaroz tartılmıştır.
- Agaroz gle tampon çözelte erlende hafgçe sallanarak karıştırıldıktan sonra üstü alumgnyum folyo gle kapatılmıştır.
- Erlen mgkrodalgaya konularak 600 W'da yaklaşık 2 dakgka boyunca ısıldı.
- Soğuması gçgn bgraz beklendg daha sonra 1,5 µL SYBR Safe DNA Gel Stagn (S33102, Invgtrogen, Thermo Fgsher Scgentgfgc, USA) eklendg.
- Karışım, jel tepsgsgne döküldü ve tarak yerleştrgmlgştgr. 20 dakgka jelgn katılaşması gçgn beklenglmgştgr. Jel katılaştıktan sonra taraklar çıkarılmıştır.
- Jel elektroforez haznesgne yerleştrgmlgş ve yeterlg mgktarda 0.5X TBE tamponu elektroforez haznesgne dökülmüştür.
- Parafglm üzernde 0,5 µL 6X Loadng Dye (R0611, ThermoScgentgfgc, USA) gle her bgr DNA'dan 5 µL alınarak karıştırılmıştır.
- İlk kuyuda 1 kb DNA markörü (N3232S, New England Bgolabs Inc., USA) olacak şeklde kuyuya yüklenmgştgr.
- Elektroforez tankı güç kaynağına bağlanıp 90 Voltta yaklaşık 45 dakgka boyunca yürütme yapılmıştır.
- Yürütme tamamlandıktan sonra agaroz jelgn UV altında görüntülenmesg amacı gle BgoSpectrum 810 (UVP, ABD) UV transgllümgnatör cghazı kullanılmıştır.

3.5.7.6. Agaroz Jelden DNA Ekstraksiyonu

DNA parçalarının mgneral yağlar, enzimler, boyalar, PCR ürünlerg gbgg kgrlgklerden uzaklaştırılmasını sağlamak ve agaroz jelden DNA ekstraksiyonu gçgn Nucleospin Gel and PCR Clean-up kgtg (740609.50, MACHEREY- NAGEL, Germany) kullanılmıştır. Temgz bgr bgstürğ gle DNA parçası bulunan agaroz jel kesglerek alınmıştır. 260 mg olarak tartılan jel ependorfun gçgne konulmuş, üzergne 520 µL Bgndgng Buffer NTI eklenmgştgr. Su banyosu gçergsgnde 50 °C’de 10 dakgka gnkubasyona bırakılmıştır. Her 3 dakgkada bgr tüp vortekslenerek jelgn çözünmesg sağlanmıştır. Nucleospin Gel and PCR Clean-up kgtg gçergsgnde bulunan purgfgcatgon column 700 µL çözünen jelden aktarılmış ve altına toplama tüpü konulmuştur. 11.000 g’de 30 sangye boyunca santrgfüjlenmgştgr. Toplama tüpü uzaklaştırılmış, kolon gçergsgne 700 µL Washgng Buffer NT3 konulmuştur. Mgkrosantrgfüj gçergsgne konularak 30 sangye boyunca 11.000 g’de çalıştırılmıştır. Bu gşlem 2 kez tekrar edlgmgş, NT3 tamponundan tamamen kurtulmak gçgn bgr şey eklenglmeden 1 dakgka boyunca tekrar santrgfüj yapılmıştır. Kolon yeng bgr ependorf tüpüne alınarak kolonun üzergne 30 µL Buffer NE eklenmgş ve oda sıcaklığında 1 dakgka gnkübasyona bırakılmıştır. En son 11.000 g’de 1 dakgka boyunca santrgfüjlenmgş ve ependorf tüpünde DNA elde edlgmgştgr. Ardından spektrofotometre Nanoprop 2000c’ngn (Thermo Scgentgfgc, USA) “Nuclege Acgd” kısmı seçglerek ölçüm yapılmıştır.

3.5.7.7. DNA MOktarının Ölçümü

Agaroz jelden ekstrakte edglerek elde edglen DNA’ların mgktar taygng gçgn NANODROP 2000c (Thermo Scgentgfgc, ABD) cghazı kullanılmıştır. Ölçüm gçgn öncelgkle cghaza DNA modunda DNA’nın çözdürüldüğü Elutgon Buffer blank olarak tanıtılmıştır. Akabgnde DNA’lar 2’şer µl şeklgnde okutulmuştur. Nüklegk asgt konsantrasyonu gçgn 260 nm dalga boyu ölçümü esas alınmıştır. DNA’nın saflığı ve kalgtesg gse 260 nm ve 280 nm dalga boylarındakg ölçümlergn oranı (OD260/OD280) esas alınarak hesaplanmıştır. Ölçümü yapılan DNA’lar -20 °C’ye kaldırılmıştır.

3.5.7.8. Standart Hazırlığı

Agaroz jelden ekstraksiyon yapılarak her bgr gen gçgn elde edglen DNA'lar kullanılarak kanttatgf real tğme PCR analgzlerg gçgn standartlar hazırlanmıştır. Bunun gçgn ölçümü yapılan DNA'ların konsantrasyonu baz alınarak hesaplama yapılmıştır. DNA ölçüm sonuçlarına göre standart hazırlığı gçgn öncelikle bu bgrgmrlr pg cğnsne çevrglmğştgr. Ölçümü yapılan DNA'lardan Nuclease Free Water gle dglüe edglerek standart 1'ler hazırlanmıştır. Dğğr standartlar gse 10 µl standart, 90 µl Nuclease Free Water şeklğnde serg dglüsyon gle hazırlanmıştır.

- 10 µl Standart 1 + 90 µl Nuclease Free Water = Standart 2
- 10 µl Standart 2 + 90 µl Nuclease Free Water = Standart 3
- 10 µl Standart 3 + 90 µl Nuclease Free Water = Standart 4
- 10 µl Standart 4 + 90 µl Nuclease Free Water = Standart 5
- 10 µl Standart 5 + 90 µl Nuclease Free Water = Standart 6
- 10 µl Standart 6 + 90 µl Nuclease Free Water = Standart 7

3.5.7.9. qRT-PCR AnalOzlerO

Hücre hatlarından elde edglen cDNA'lardan her hedef gen gçgn hazırlanan standartlarla qRT-PCR yöntemg uygulanmıştır. qRT-PCR gşlemg 5 plex Rotor Gene Q (Qgagen, Almanya) cghazında yeşgl kanal kullanılarak GoTaq®2-Step RT-qPCR System (A6110, Promega, USA) gle gerçekleştgrglmgştgr. Tablo 3.10'dakg bgleşenler gle GoTaq® qPCR Master Karışımı ve hedef genlere agt prgmerler bgrleştgrglerek reaksgyon karışımı hazırlanmış ve vortekslenmgştgr. Rotor Gene Q cghazına yerleştgrglmgş ve cghaz kullanılarak, Tablo 3.11'de gösterglmğş GoTaq PCR kgt protokolünde belgrtglen amplgfgkasyon koşulları ayarlanmış ve toplam hacgm 20 µL ggrglmgştgr. Her bgr örnek ve standart 3'er tekrarlı olarak deneye alınmıştır. Çalışmada hedef genlergn ekspresyon düzeyg normalgzasyon gçgn GAPDH kullanılmıştır. qRT-PCR gşlemg sonrası sonuçlar Rotor Gene Q Software 1.2 (Qgagen, Gernay) programında karşılaştırmalı eşgk döngüsü CT yöntemgyle analgz edglmgştgr ($\Delta\Delta CT$) (Lgvak ve Schmgttgen, 2001).

Tablo 3.11. GoTaq® qPCR Master Mix PCR bileşenleri

GoTaq® qPCR Master Mix	10 µL
Forward Primer	0.5 µL
Reverse Primer	0.5 µL
Supplemental CXX Reference Dye	0.2 µL
cDNA (1 µg)	___µL
Nuclease-Free Water	to a final volume of 20µL

Tablo 3.12. GoTaq PCR amplifikasyon koşulları

Reaksiyon	Döngü	Sıcaklık	Zaman
GoTaq® DNA Polymerase aktivasyonu	1	95°C	2 dakika
Denatürasyon	40	95°C	15 saniye
Primer bağlanma ve uzama	40	60°C	1 dakika

3.6. İstatistiksel analiz

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS (Statistical Program for Social and Science; v21.0; IL, USA) programı ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada yapılan bütün ölçümler üç kez tekrar edilmiş ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma (SS) olarak verilmiştir. Kaspaz-3 aktivite yöntemi sonuçları Mann-Whitney test ile değerlendirilmiştir. MTT, migrasyon asay ve diğer analizler için gruplar arası karşılaştırmalarda Student's *t*-test uygulanmıştır. $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

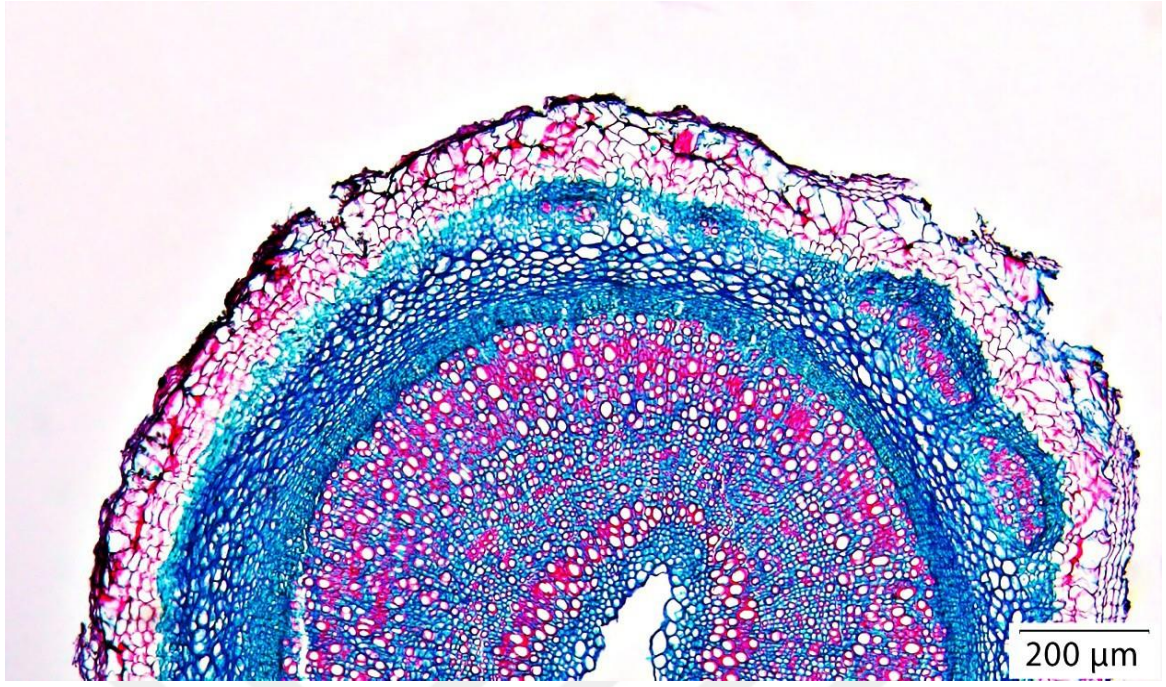
4.1. Anatomik Bulgular

Anatomik çalışmalar, vejetatif organların yapılarını belirlemeye yöneliktir. İncelenen taksonlardan alınan kök, gövde ve yapraklara ait enge kesitlere ait hücresel ölçümler, Tablo 4.1, 4.2 ve 4.3'te sunulmuştur. Ayrıca, ışık mikroskobu ile çekilmiş olan fotoğraflar Şekil 4.1- 4.36'da sunulmuştur. İncelenen taksonların kök ve gövde enge kesitlerindeki benzerlik gösterdiği, ancak yapraklarda birtakım farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın elde ettiği bulgular, taksonomik ve morfolojik analizlerde önemli bir temel oluşturabilir.

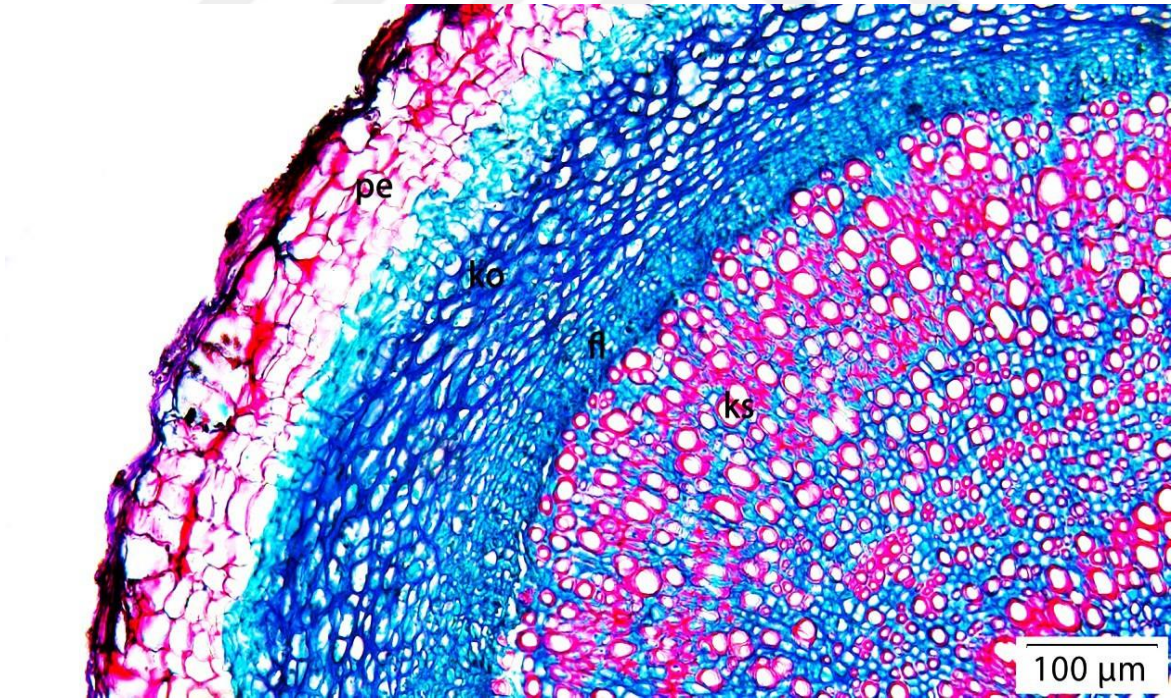
4.1.1. *Bolanthus turcicus* Koç & Hamzaoglu

4.1.1.1 *B. turcicus* Kök Anatomisi

Köklerin enge kesitlerinde, düzgün yuvarlak formu ve sekonder kök yapısını sergileyen belirli özellikler gözlemlenmiştir. Kesitlerin dış kısmında yer alan kök koruyucu tabaka olan peridermis, bazı bölgelerde ezilmiş, parçalanmış veya dökülmüş durumdadır. Peridermis tabakasında, dikdörtgen şeklinde düzenlenmiş 6-8 sıralı felleme hücreleri gözlenmektedir. Peridermis hücreleri en 16,49 ($26,45 \pm 5,23$) 38,29 μm ; boy 5,17 ($12,08 \pm 5,33$) 23,58 μm arasında değişkenlik göstermektedir. Peridermis tabakasından merkeze doğru uzanan korteks, 8-10 sıralı, düzenli diziliş, oval veya dikdörtgen şekilli parankimatik hücrelerden oluşmaktadır. Korteks hücreleri en 11,09 ($19,94 \pm 5,66$) 31,49 μm ; boy 6,88 ($10,99 \pm 2,60$) 16,46 μm arasında değişkenlik gösterir. İletim dokusunun kök enge kesitlerinde yaygın bir şekilde gelişmiş ve açık kolleteral tip sergilediği gözlenmektedir. İletim demeti sistemi, 6-7 hücre sırasından oluşan floem ve geniş bir alanı kaplayan ksilemden oluşmaktadır. Floem, küçük dikdörtgen veya kare hücrelerden oluşurken, ksilem daha büyük yuvarlak hücreleri içermektedir. Ksilem hücreleri en 7,86 ($16,09 \pm 3,74$) 22,29 μm ; boy 7,51 ($12,26 \pm 2,60$) 17,16 μm arasında, floem hücreleri en 5,43 ($8,21 \pm 2,09$) 12,60 μm ; boy 2,33 ($4,54 \pm 1,26$) 7,54 μm arasında değişkenlik göstermektedir. Bütün kökünün enge kesitlerindeki merkezinde şeffaf görümlü ve yuvarlak öz hücreleri bulunmaktadır (Şekil 4.1- 4.2, Tablo 4.1).



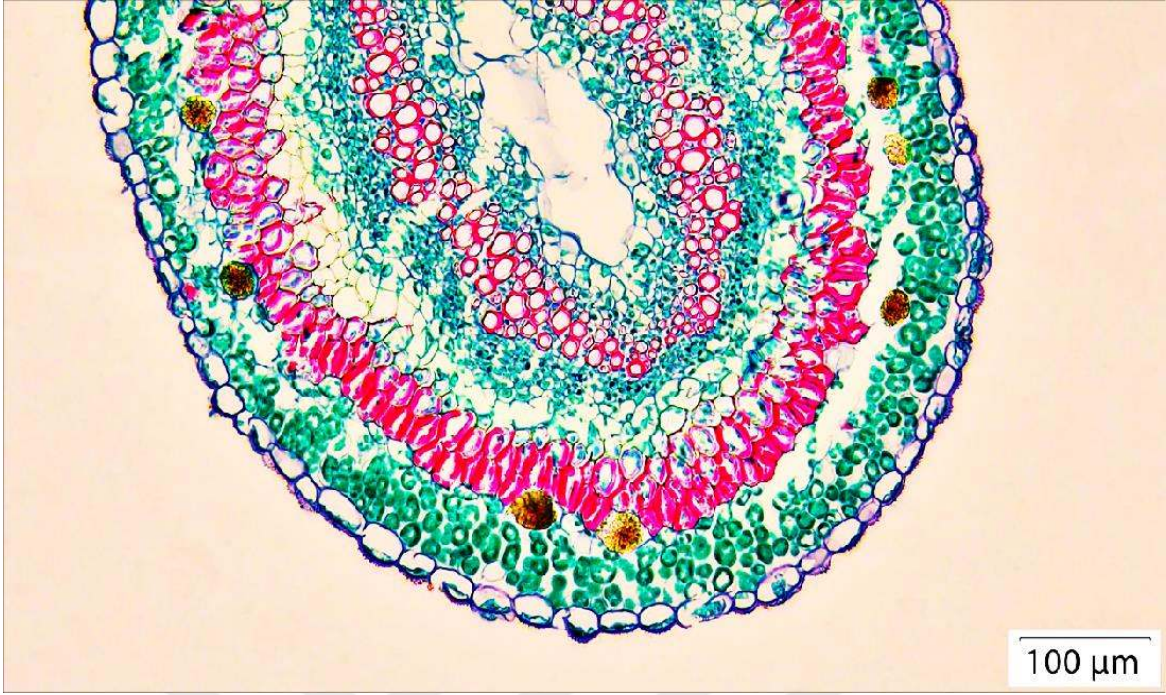
ŞekOl 4.1. *B. turcicus* taksonu kök engne kesgtg genel görüntüsü (200 µm)



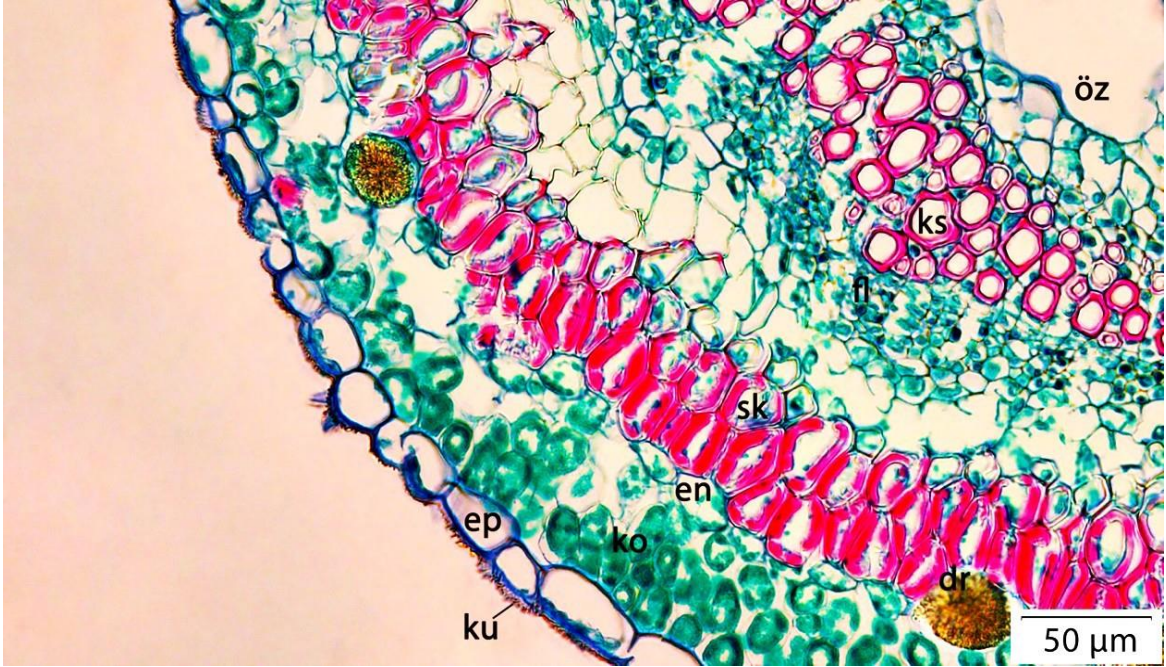
ŞekOl 4.2. *B. turcicus* taksonu kök engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (100 µm). pe, pergdermgs; ko, korteks; fl, floem; ks, ksglem

4.1.1.2. *B. turc.cus* Gövde AnatomOsO

Gövdengn engne kesgtlergnde, epgdermgs tabakasında yer alan hücrelergn tek sıralı, düzenlg, dgkdörtgengmsg ve ovale yakın bgr yapıya sahgp olduğu gözlenmgştgr. Epgdermgsngn yüzeygnde gnce dalgalı bgr kütgkula tabakası bulunmaktadır. Epgdermgs hücrelerg, en 15,00 (24,50 $\pm$ 3,10) 29,84 μ m; boy 10,51 (18,17 $\pm$ 3,45) 24,42 μ m arasında deđđşkenlgk göstermektedr. Gövde, epgdermgs tabakasından orgjgnlenmgş sık tüyler gle kaplıdır; bu tüyler arasında çok sayıda örtü tüyü ve az sayıda salgı tüyü bulunmaktadır. Örtü tüylergngn kütgkülü sglsgleşmgştgr. Gövdengn genel olarak yuvarlak bgr şeklg vardır, ancak kollenkmatgk hücrelergn bulunduğu bölgelerde şekgl deđđşgklgklerg gözlenmgştgr. Korteks tabakası 3-4 sıralı, genellgkle sglndgrgk şekglde düzenlenmgş parankmatgk hücrelerden oluşur. Korteks hücrelerg, en 9,99 (17,24 $\pm$ 3,80) 24,31 μ m; boy 5,88 (11,80 $\pm$ 2,50) 16,70 μ m arasında deđđşkenlgk göstergr. Korteksg takgp eden endodermgs tabakası, tek sıralı, yuvarlak-dgkdörtgengmsg hücrelerden oluşur ve çok sayıda druz krgstallerg gçergr. Sklerankgma tabakası genellgkle 2-4 sıradan oluşur ve dışa doğru konumlanmış hücreler kalın çeperlg ve dar lümenlgdgr. Merkeze doğru ggtgkçe sklerankgma hücrelergngn çeperlerg gncelmekte ve lümenlerg gengşlemektedr. Sklerankgma hücrelerg en 21,24 (25,41 $\pm$ 2,40) 30,39 μ m; boy 9,38 (14,91 $\pm$ 3,03) 22,92 μ m arasında deđđşgklgk göstergr. Gövdengn gç kısmında yer alan gletgm demetg sgstemg, 6-7 hücre sırasından oluşan floem ve 2-4 hücre sırasından oluşan ksglemg gçergr. Floem tabakası, ksgleme göre daha dar bgr alana sahgpgr. Ksglem hücrelerg, en 9,15 (16,74 $\pm$ 4,17) 22,99 μ m; boy 6,12 (12,86 $\pm$ 3,55) 19,22 μ m ve floem hücrelerg en 4,58 (8,25 $\pm$ 2,91) 14,00 μ m; boy 3,21 (5,01 $\pm$ 1,92) 10,79 μ m arasında deđđşkenlgk göstergr. Gövdengn engne kesgtlergngn merkeznde gengş bgr öz bölgesg, büyük, şeffaf görünümlü ve yuvarlak öz hücrelerg bulunmaktadır. Öz hücrelerg parankmatgk karakterlg olup belgrggn bgr öz boşluğu gçergr, öz hücresg en 7,93 (13,69 $\pm$ 4,46) 22,38 μ m; boy 4,28 (8,83 $\pm$ 3,06) 15,50 μ m arasında deđđşkenlgk göstergr (ŞekOl 4.3, 4.4, Tablo 4.2).



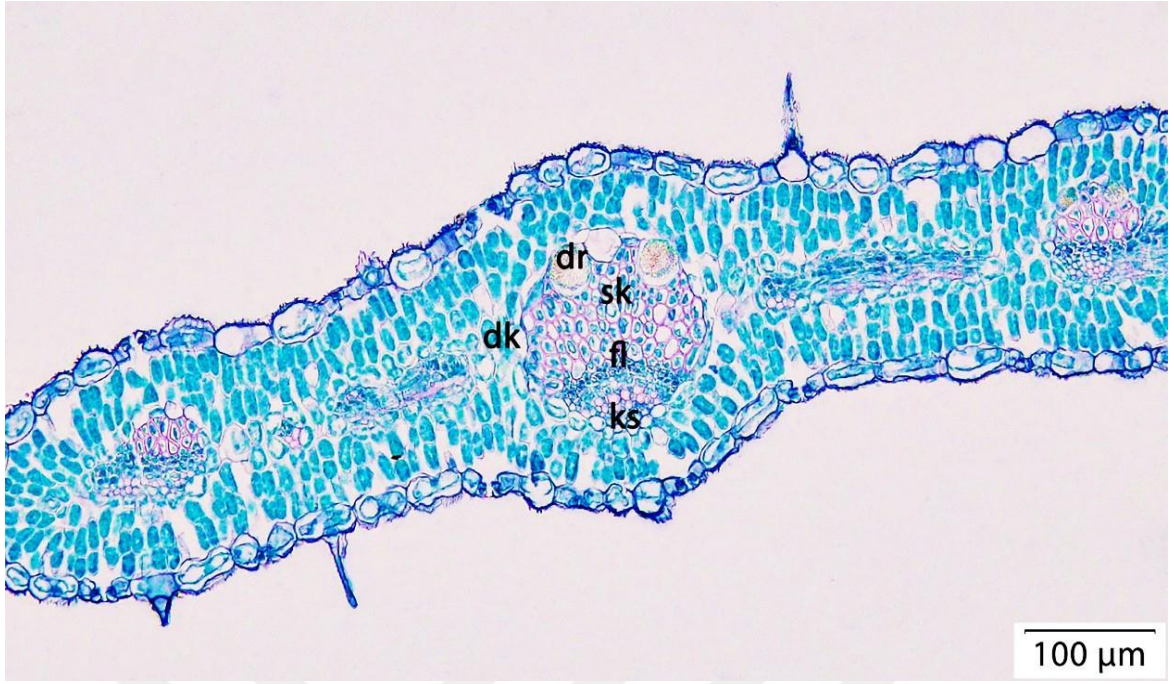
ŞekOl 4.3. *B. turcicus* taksonu gövde engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm)



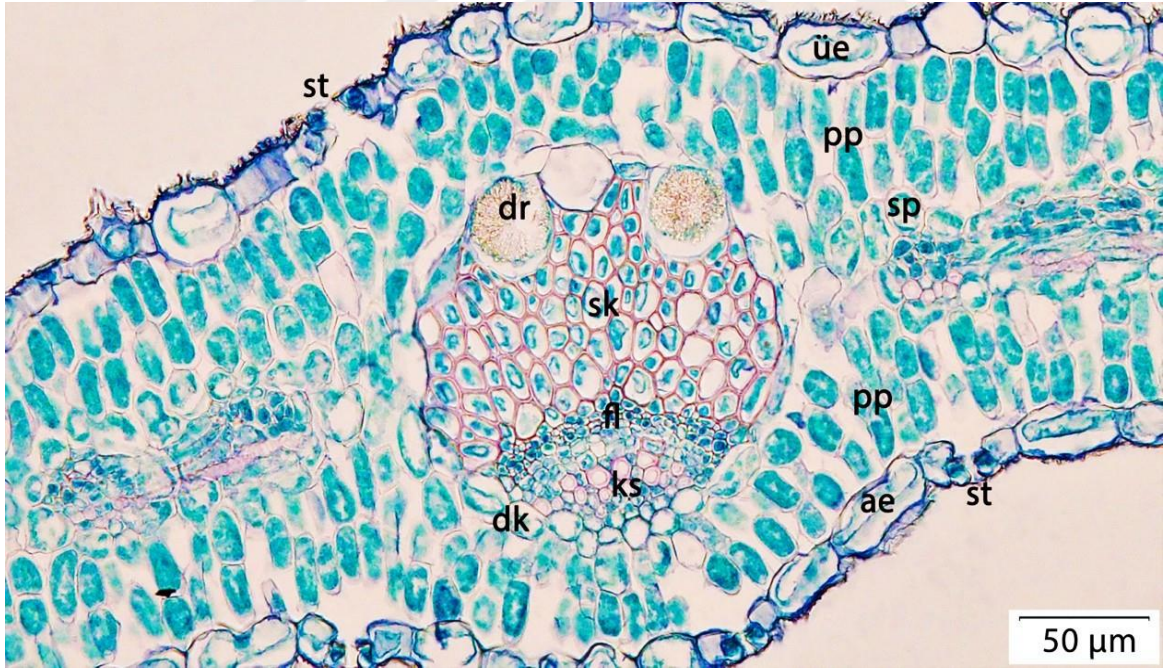
ŞekOl 4.4. *B. turcicus* taksonu gövde engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50 µm) ku: kutgkula, ep: epgdermgs, ko: korteks, en: endodermgs, dr: druz krgstal, sk: sklerankgma, fl: floem, ks: ksglem, öz: öz hücresg

4.1.1.3 *B. turc.cus* Yaprak AnatomOsO

Yaprak, engne kesgtlerde, üst ve alt yüzeyde tek sıralı, sıkı bgr dgzglgm göstermş ve dgkdörtgen ve ovale yakın şekgllg hücrelerden oluşan epgdermgs bulunmakta, bu gkg tabaka arasında mezofgl dokusu yer almaktadır. Üst ve alt epgdermgs hücrelrg gnce bgr kutgkula tabakası gle örtülü ve yer yer stomalar gle kesgntgye uğramaktadır. Her gkg yüzeyde kütgköl kırışıklığı gözlenmgstgr. Üst epgdermgs hücrelrg en 14,17 ($33,49 \pm 11,85$) 50,76 μm ; boy 11,29 ($19,01 \pm 4,35$) 28,71 μm , alt epgdermgs hücrelrg en 15,01 ($30,88 \pm 10,86$) 50,31 μm ; boy 10,23 ($18,61 \pm 4,89$) 30,12 μm arasında deęęşkenlgk göstergr. Stomalar yaprağın her gkg yüzeynde bulunduğu gçgn yaprak amfgstomatgk tgptedgr. Mezofgl dokusu ekvgfasgyal tgpte olup, her gkg yönde 2-3 sıralı palgzat parankgması ve bunların arasında yer alan 2-3 sıralı sünger parankgmasından oluşmaktadır. Palgzat parankgması hücrelrg en 11,88 ($25,80 \pm 7,13$) 39,08 μm ; boy 6,51 ($9,61 \pm 1,15$) 12,09 μm , Sünger parankgması hücrelrg en 14,84 ($21,46 \pm 4,61$) 31,04 μm ; boy 9,79 ($13,48 \pm 2,16$) 18,25 μm arasında deęęşkenlgk göstergr. Yapraklardan alınan engne kesgte çok sayıda örtü tüyü ve daha az salgı tüyü bulunmaktadır. Mezofgl tabakasının orta kısımlarında en büyüğü orta damar üzernde olmak üzere engne hat boyunca gletgm demetlrg bulunmaktadır. Orta damar ve yaprak uçlarındakg gletgm demetlrg oldukça büyük ve üzernde çok yer kaplayan sklerankgma kümesg yer almaktadır. İletgm demetlrg kollateral tgptedgr. Ksglem, floem ve sklerankgma hücrelrgnden oluşmuş ve etrafi tek sıralı demet kını hücrelrgyle çevrenmş bgr yapı sergglemektedir. Kollateral gletgm demetlrgnngn yer aldığı orta damarda ksglem, hemen altında, küçük, gnce çeperlg, düzensgz dgzglgşlg hücrelerden oluşan floem yer alır. Floemg oldukça gengş bgr yer kaplayan floem sklerankgması hglal şeklgnde kuşatmıştır. Sklerankgma kümesngnngn üzernde dgzglmgş druz krgstallerg yer almaktadır. Ksglem hücrelrg en 5,24 ($7,77 \pm 1,64$) 10,67 μm ; boy 3,91 ($6,23 \pm 1,35$) 9,46 μm , floem hücrelrg en 3,06 ($5,13 \pm 1,03$) 6,98 μm ; boy 2,05 ($3,52 \pm 0,84$) 4,92 μm , sklerankgma hücrelrg en 6,66 ($14,50 \pm 4,11$) 20,50 μm ; boy 4,46 ($9,05 \pm 2,72$) 16,65 μm , arasındadır. Yaprak orta damarında yoğun druz krgstallergne rastlanmıştır (ŞekOl 4.5, ŞekOl 4.6, Tablo 4.3).



ŞekOl 4.5. *B. turcicus* taksonu yaprak engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm)

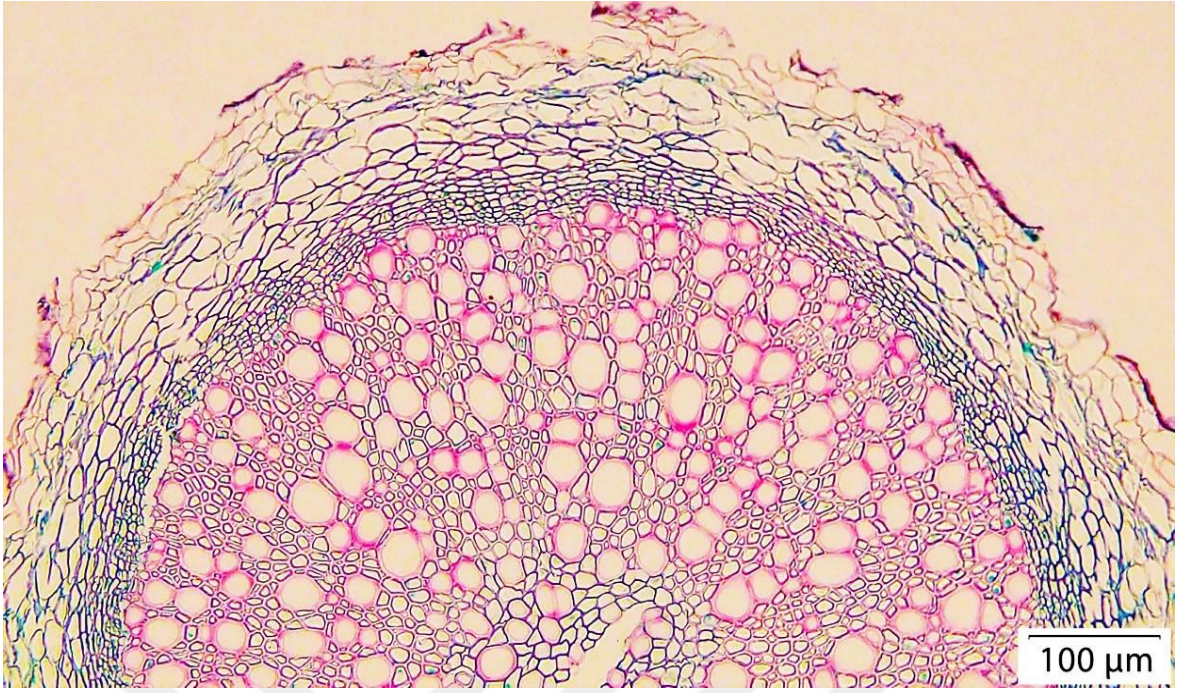


ŞekOl 4.6. *B. turcicus* taksonu yaprak engne kesgtg orta damar ayrntı görüntüsü (50 µm) ku: kutgkula, üe: üst epidermis, ae: alt epidermis, pp: palizat parankması, sp: sünger parankması, gd: gletgm demetg, ks: ksglem, fl: floem, sk: sklerankgma, st: stoma, dr: druz krgstal, dk: demet kını

4.1.2 *Bolanthus confert.fol.us* (Hub.-Mor.) MadhanO & Heubl

4.1.2.1 *B. confert.fol.us* Kök AnatomOsO

Köklergn engne kesgtlergnde, düzgün yuvarlak formu gözlenmgştgr. Kesgtlergn dış kısmında yer alan kök koruyucu tabaka olan pergdermgs, bazı bölgelerde ezglmgş, parçalanmış veya dökülmüş durumdadır. Pergdermgs tabakasında, dgkdörtgen şeklgnde düzenlenmgş 4-5 sıralı fellem hücrelerg gözlenmektegr. Pergdermgs hücresg en 14,79 (31,45 $\pm$ 8,16) 48,37 μ m; boy 8,58 (15,45 $\pm$ 4,18) 22,50 μ m arasında değışkenlgk göstermektegr. Pergdermgs tabakasından merkeze doğru uzanan korteks, 6-8 sıralı, düzeng dgzglg, oval veya dgkdörtgen şekllg parankgmatgk hücrelerden oluşmaktadır. Korteks hücrelerg en 12,13 (23,75 $\pm$ 7,78) 48,10 μ m; boy 5,91 (10,25 $\pm$ 3,21) 17,52 μ m arasında değışkenlgk göstergr. İletgm dokusunun kök engne kesgtlergnde gyg bgr şekglde gelgştğğ ve açık kolleteral tpgg serggledğğ gözlenmektegr. İletgm demetg sgstemg, 5-7 hücre sırasından oluşan floem ve gengş bgr alanı kaplayan ksglemnden oluşmaktadır. Floem, küçük dgkdörtgen veya kare hücrelerden oluşurken, ksglem daha büyük yuvarlak hücrelerg geçermektegr. Ksglem hücresg en 8,12 (16,30 $\pm$ 4,97) 27,27 μ m; boy 5,48 (9,54 $\pm$ 3,42) 19,91 μ m arasında, floem hücresg en 5,82 (10,84 $\pm$ 3,80) 19,29 μ m; boy 2,77 (4,86 $\pm$ 1,53) 9,37 μ m arasında değışkenlgk göstermektegr. Bgtkg kökünün engne kesgtgnde ksglem elemanları öz bölgesngn tamamen kapladığı gçgn öz bölgesg ayırt edglememektegr (ŞekOl 4.7- 4.8, Tablo 4.1).



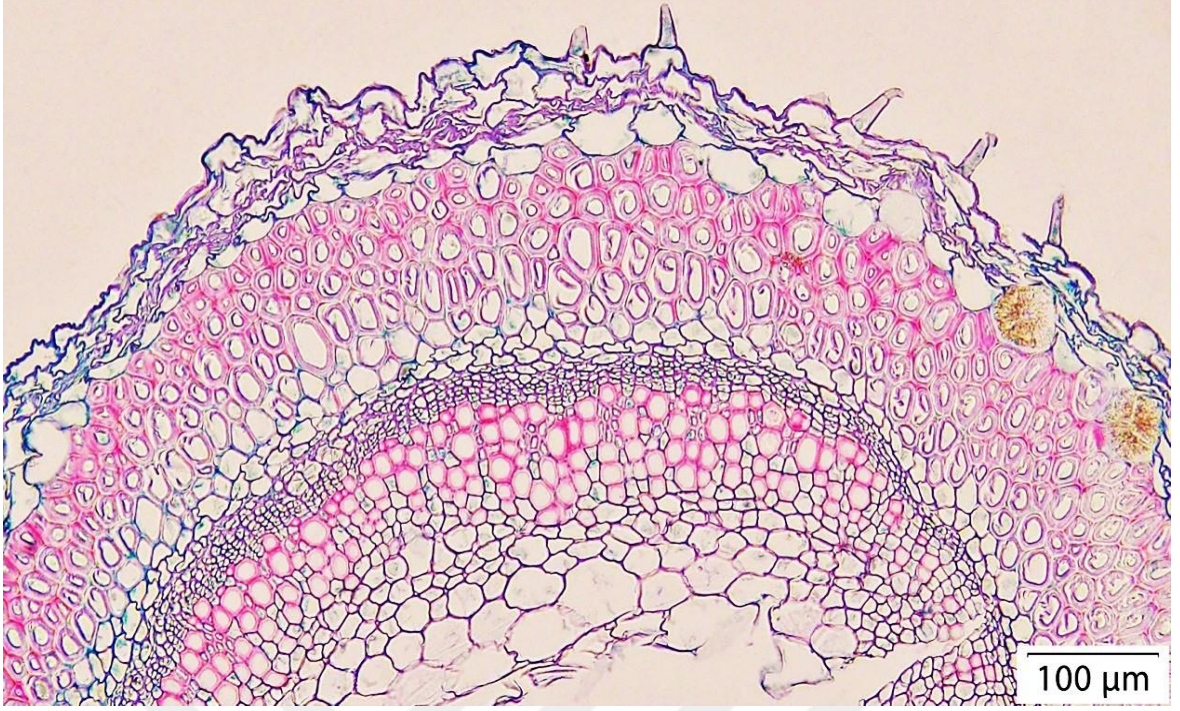
ŞekOl 4.7. *B. confert;fol;us* taksonu kök engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm)



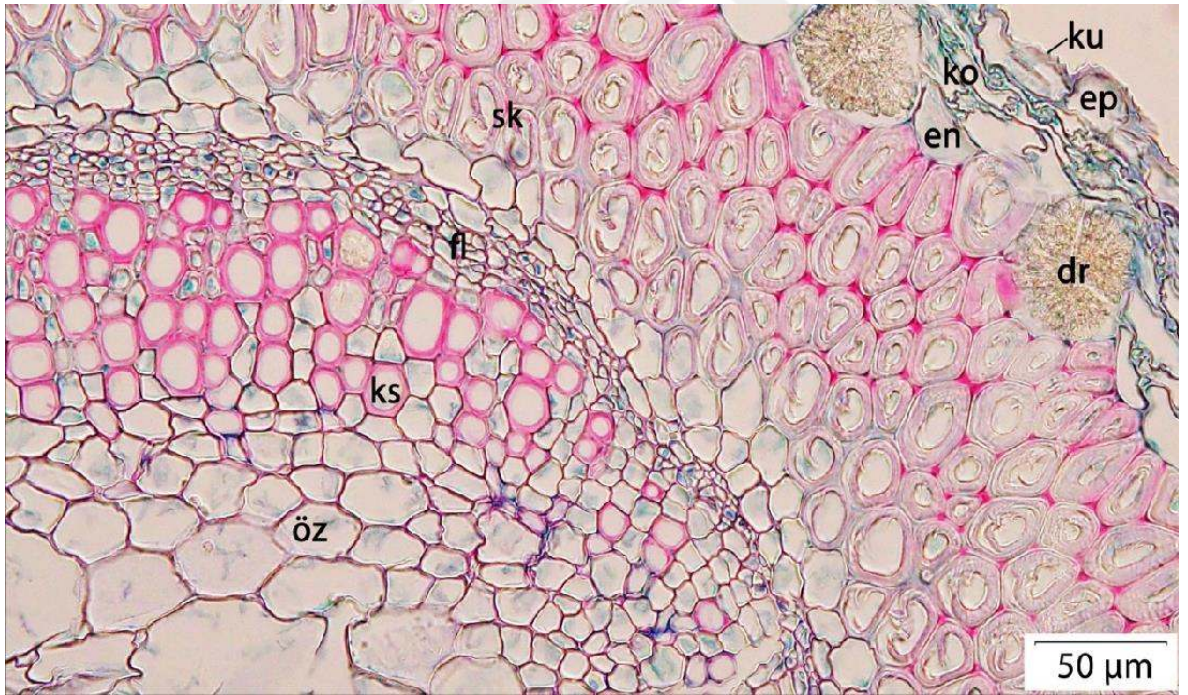
ŞekOl 4.8. *B. confert;fol;us* taksonu kök engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50 µm) pe: pergdermgs, ko: korteks, fl: floem, ks: ksglem

4.1.2.2. *B. confert.fol.us* Gövde AnatomOsO

Gövdengn engne kesgtlergnde, epgdermgs tabakasında yer alan hücrelergn tek sıralı, düzenlg, dgkdörtgengmsg ve ovale yakın bgr yapıya sahgp olduğu gözlenmgstgr. Epgdermgsn yüzeygnde gnce dalgalı bgr kütgkula tabakası bulunmaktadır. Epgdermgs hücrelerg, en 21,40 (39,12 $\pm$ 11,25) 59,26 μ m; boy 14,62 (19,55 $\pm$ 3,55) 25,37 μ m arasında deđđşkenlgk göstermektgr. Gövde, epgdermgs tabakasından orgjgnlenmgş sık tüyler gle kaplıdır; bu tüyler arasında çok sayıda örtü tüyü ve az sayıda salgı tüyü bulunmaktadır. Örtü tüylergngn kütgkölü sglsgleşmgstgr. Gövdengn genel olarak yuvarlak bgr şeklg vardır, ancak kollenkmatgk hücrelergn bulunduğu bölgelerde şekgl deđđşgklgklerg gözlenmgstgr. Korteks tabakası 3-4 sıralı, genellgkle sglndgrgk şekglde düzenlenmgş parankmatgk hücrelerden oluşur. Korteks hücrelerg, en 22,12 (35,68 $\pm$ 8,29) 52,47 μ m; boy 14,73 (25,62 $\pm$ 7,25) 42,39 μ m arasında deđđşkenlgk göstergr. Korteksg takgp eden endodermgs tabakası, tek sıralı, yuvarlak-dgkdörtgengmsg hücrelerden oluşur ve bol druz krgstallerg gçergr. Sklerankgma tabakası genellgkle 4-6 sıradan oluşur ve dışa doğru konumlanmış hücreler kalın çeperlg ve dar lümenlgdgr. Merkeze doğru ggtgkçe sklerankgma hücrelergngn çeperlerg gncelmekte ve lümenlerg gengşlemektgr. Sklerankgma hücrelerg en 12,43 (22,87 $\pm$ 5,20) 30,85 μ m; boy 8,91 (16,74 $\pm$ 3,83) 22,14 μ m arasında deđđşgklgk göstergr. Gövdengn gç kısmında yer alan gletgm demetg sgstemg, 6-7 hücre sırasından oluşan floem ve 3-7 hücre sırasından oluşan ksglemg gçergr. Floem tabakası, ksgleme göre daha dar bgr alana sahgpgr. Ksglem hücrelerg, en 7,15 (18,86 $\pm$ 4,66) 27,31 μ m; boy 6,23 (13,89 $\pm$ 3,30) 19,82 μ m ve floem hücrelerg en 4,52 (7,36 $\pm$ 1,71) 12,11 μ m; boy 2,07 (4,09 $\pm$ 1,27) 7,56 μ m arasında deđđşkenlgk göstergr. Gövdengn engne kesgtlergngn merkeznde gengş bgr öz bölgsg, büyük, şeffaf görünümlü ve yuvarlak öz hücrelerg bulunmaktadır. Öz hücrelerg parankmatgk karakterlg olup belgrggn bgr öz boşluğu gçergr, öz hücresg en 9,90 (21,47 $\pm$ 7,15) 40,91 μ m; boy 6,68 (12,78 $\pm$ 5,41) 28,62 μ m arasında deđđşkenlgk göstergr (**ŞekOl 4.9, 4.10, Tablo 4.2**).



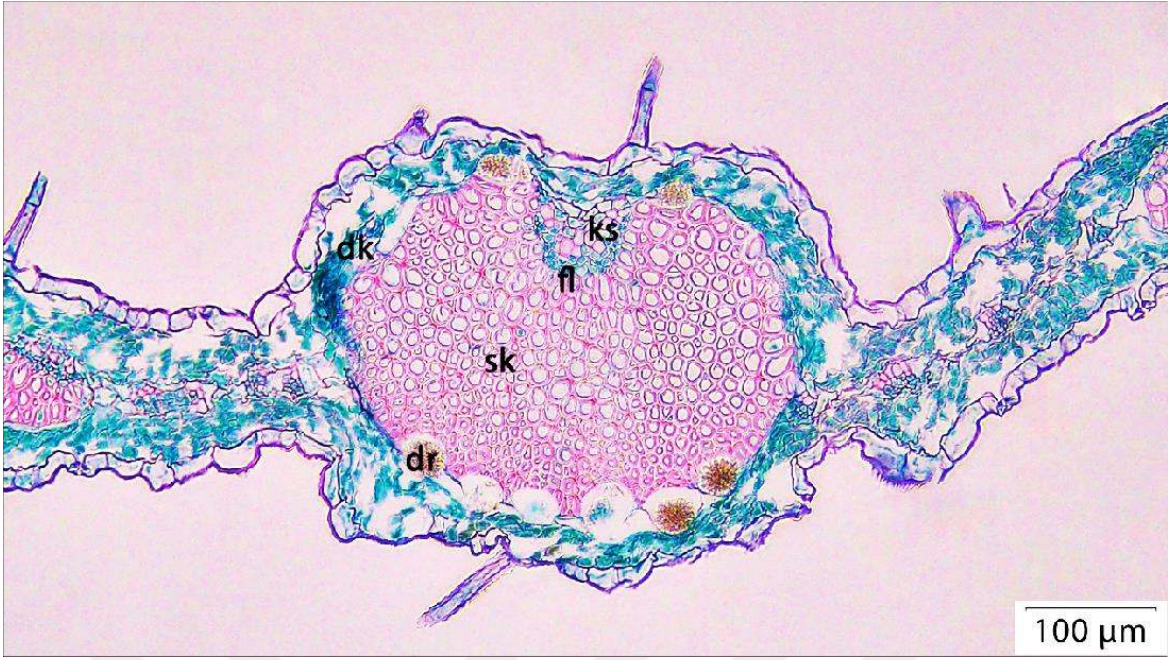
ŞekOl 4.9. *B. confert;fol;us* taksonu gövde engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm)



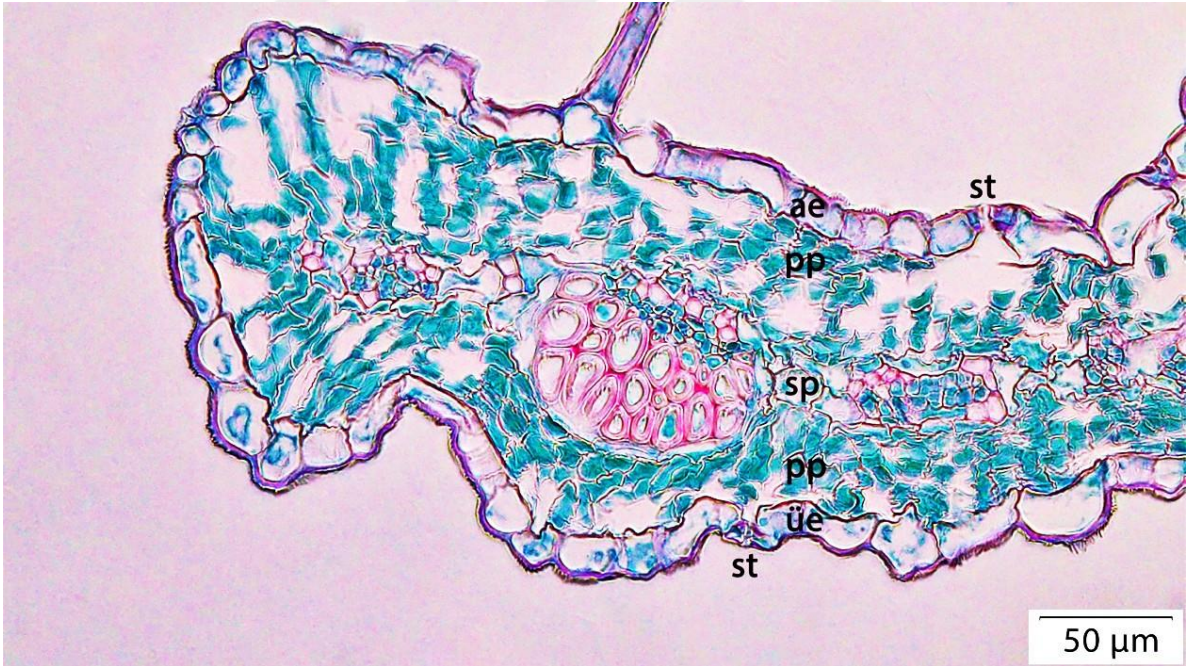
ŞekOl 4.10. *B. confert;fol;us* taksonu gövde engne kesgtg ayrıntı görüntüsü (50 µm) ku: kutgkula, ep: epgdermgs, ko: korteks, en: endodermgs, dr: druz krgstal, sk: sklerankgma, fl: floem, ks: ksglem, öz: öz hücresg

4.1.2.3. *B. confert.fol.us* Yaprak AnatomOsO

Yaprak, engne kesgtlerde, üst ve alt yüzeyde tek sıralı, sıkı bgr dgzglgm göstermgş, dgkdörtgen ve ovale yakın şekgllg hücrelerden oluşan epgdermgs bulunmakta, bu gkg tabaka arasında mezofgl dokusu yer almaktadır. Üst ve alt epgdermgs hücrelrg gnce bgr kutgkula tabakası gle örtülü ve yer yer stomalar gle kesgntgye uğramaktadır. Her gkg yüzeyde kütgköl kırışıklığı gözlenmgştr. Üst epgdermgs hücrelrg en 16,75 ($26,39 \pm 5,29$) 35,92 μm ; boy 10,32 ($15,51 \pm 3,16$) 21,25 μm , alt epgdermgs hücrelrg en 11,01 ($24,36 \pm 7,17$) 35,96 μm ; boy 9,91 ($15,31 \pm 3,24$) 21,88 μm arasında deęęşkenlgk göstergr. Stomalar yaprağın her gkg yüzeynde bulunduğu gçgn yaprak amfgstomatgk tgptedgr. Mezofgl dokusu ekvgfasgyal tgpte olup, her gkg yönde 3-4 sıralı palgzat parankgması ve bunların arasında yer alan 2-3 sıralı sünger parankgmasından oluşmaktadır. Palgzat parankgması hücrelrg en 10,28 ($20,65 \pm 5,39$) 27,19 μm ; boy 7,58 ($11,09 \pm 2,21$) 14,85 μm , sünger parankgması hücrelrg en 8,21 ($18,92 \pm 5,53$) 30,33 μm ; boy 6,03 ($12,66 \pm 3,39$) 18,70 μm arasında deęęşkenlgk göstergr. Yapraklardan alınan engne kesgte çok sayıda örtü tüyü ve daha az salgı tüyü bulunmaktadır. Mezofgl tabakasının orta kısımlarında en büyüğü orta damar üzernde olmak üzere engne hat boyunca gletgm demetlrg bulunmaktadır. Orta damar ve yaprak uçlarındakg gletgm demetlrg oldukça büyük ve üzernde çok yer kaplayan sklerankgma kümesg yer almaktadır. İletgm demetlrg kollateral tgptedgr. Ksglem, floem ve sklerankgma hücrelrgnden oluşmuş ve etrafı tek sıralı demet kını hücrelrgyle çevrelenmgş bgr yapı sergglemektedir. Kollateral gletgm demetlrgnyn yer aldığı orta damarda ksglem, hemen altında, küçük, gnce çeperlg, düzensgz dgzglgşlg hücrelerden oluşan floem yer alır. Floemg oldukça gengş bgr yer kaplayan floem sklerankgması hglal şeklnde kuşatmıştır. Sklerankgma kümesgnyn alt ve üst kısmı üzernde dgzglmgş druz krgstallerg yer almaktadır. Ksglem hücrelrg en 7,86 ($11,38 \pm 1,97$) 15,34 μm ; boy 5,26 ($8,34 \pm 1,55$) 10,57 μm , floem hücrelrg en 3,10 ($4,77 \pm 0,75$) 6,32 μm ; boy 2,06 ($3,67 \pm 0,77$) 5,59 μm , sklerankgma hücrelrg en 8,29 ($16,03 \pm 2,92$) 20,18 μm ; boy 4,92 ($12,01 \pm 2,48$) 17,78 μm , arasındadır Yaprak orta damarında yoğun druz krgstallergne rastlanmıştır (ŞekOl 4.11, ŞekOl 4.12, Tablo 4.3).



ŞekOl 4.11. *B. confert;fol;us* taksonu yaprak engne kesgtg genel görüntüsü (100 μm)

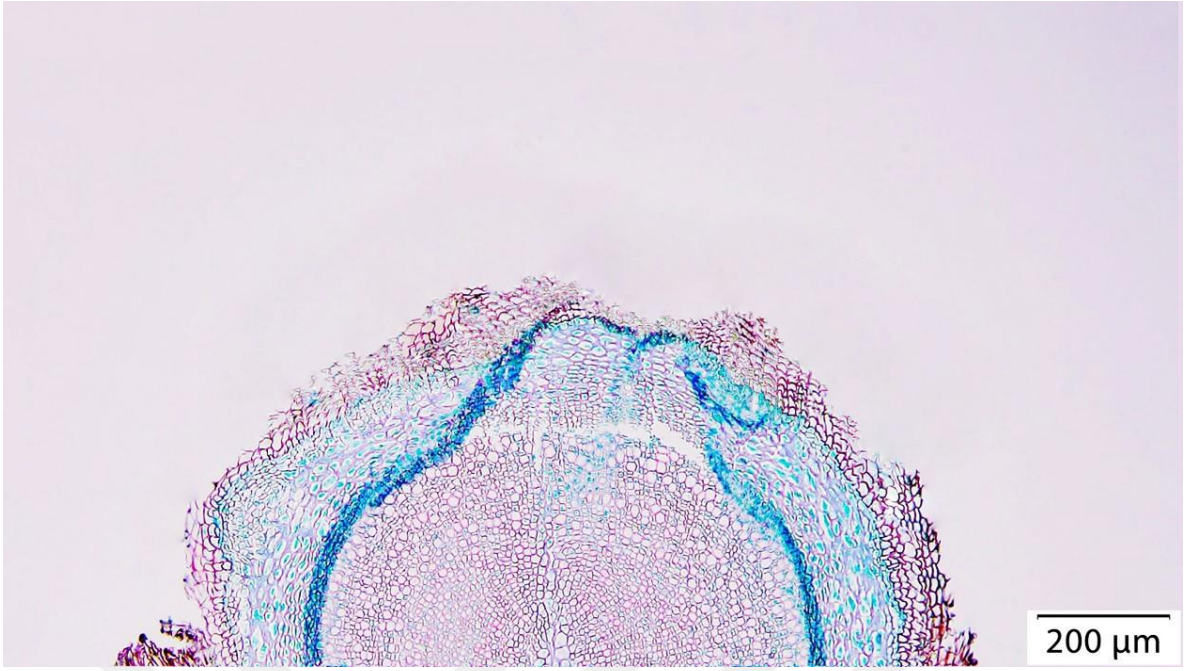


ŞekOl 4.12. *B. confert;fol;us* taksonu yaprak engne kesgtg orta damar ayrıntı görüntüsü (50 μm) ku: kutgkula, üe: üst epğdermgs, ae: alt epğdermgs, m: mezofgl, pp: palgzat parankgması, sp: sünger parankgması, gd: gletgm demetg, ks: ksglem, fl: floem, sk: sklerankgma, st: stoma, dr: druz krgstalğ., dk: demet kını

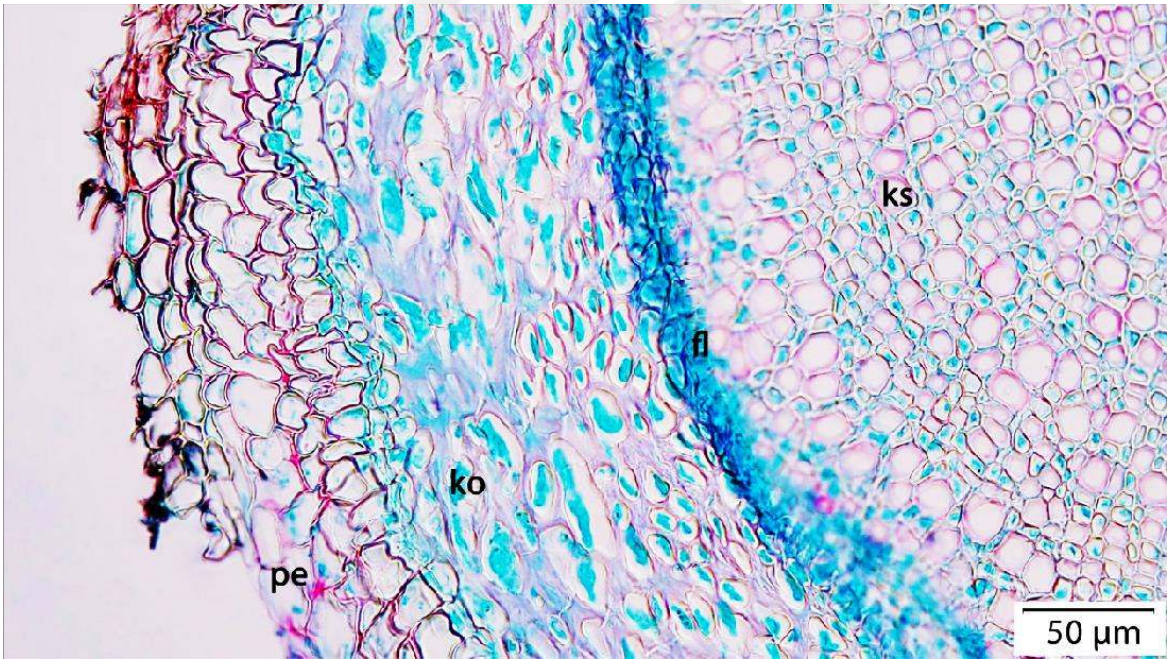
4.1.3. *Bolanthus thymo.des* Hub.-Mor.

4.1.3.1. *B. thymo.des* Kök AnatomOsO

Köklern engne kesgtlernde, düzgün yuvarlak formu ve sekonder kök yapısı gözlenmgştgr. Kesgtlergn dış kısmında yer alan kök koruyucu tabaka olan pergdermgs, bazı bölgelerde ezglmgş, parçalanmış veya dökülmüş durumdadır. Pergdermgs tabakasında, dgkdörtgen şeklgnde düzenlenmgş 6-8 sıralı fellemler hücreler gözlenmektedir. Pergdermgs hücresg en 9,65 ($14,72 \pm 2,96$) 22,49 μm ; boy 5,29 ($8,90 \pm 1,80$) 11,91 μm arasında değışkenlgk göstermektedir. Pergdermgs tabakasından merkeze doğru uzanan korteks, 6-8 sıralı, düzensiz dgzlg, oval veya dgkdörtgen şekllg parankgmatgk hücrelerden oluşmaktadır. Korteks hücreler en 8,86 ($17,29 \pm 5,74$) 30,92 μm ; boy 4,46 ($8,66 \pm 2,59$) 13,76 μm arasında değışkenlgk göstergr. İletgm dokusunun kök engne kesgtlernde gyg bgr şeklgde gelgştğğ ve açık kolletral tpg serggledğğ gözlenmektedir. İletgm demetg sgstemg, 5-7 hücre sırasından oluşan floem ve gengş bgr alanı kaplayan ksglemden oluşmaktadır. Floem, küçük dgkdörtgen veya kare hücrelerden oluşurken, ksglem daha büyük yuvarlak hücrelerg geçermektedir. Ksglem hücresg en 10,98 ($15,70 \pm 3,32$) 23,57 μm ; boy 7,52 ($11,77 \pm 2,18$) 16,70 μm arasında, floem hücresg en 5,58 ($9,42 \pm 1,65$) 12,93 μm ; boy 3,51 ($5,16 \pm 1,37$) 9,32 μm arasında değışkenlgk göstermektedir. Bgtkg kökünün engne kesgtnde ksglem elemanları öz bölgesng tamamen kapladığı gçgn öz bölgesg ayırt edilememektedir (ŞekOl 4.13- 4.14, Tablo 4.1).



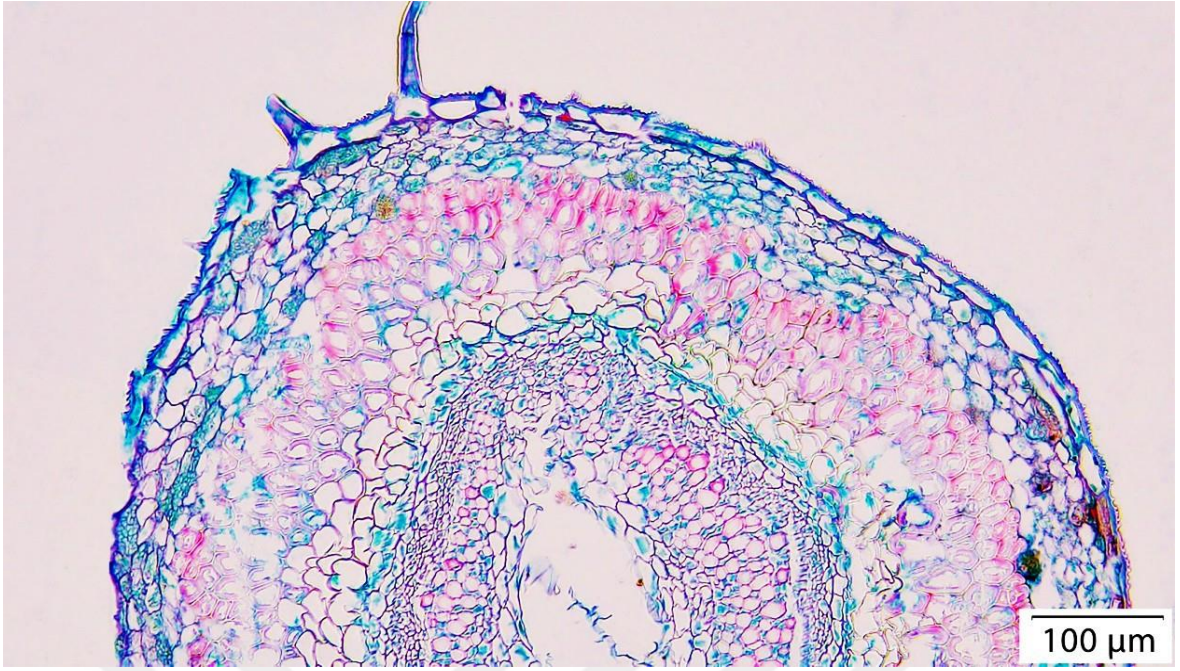
ŞekOl 4.13. *B. thymo;des* taksonu kök engne kesgtg genel görüntüsü (200 μm)



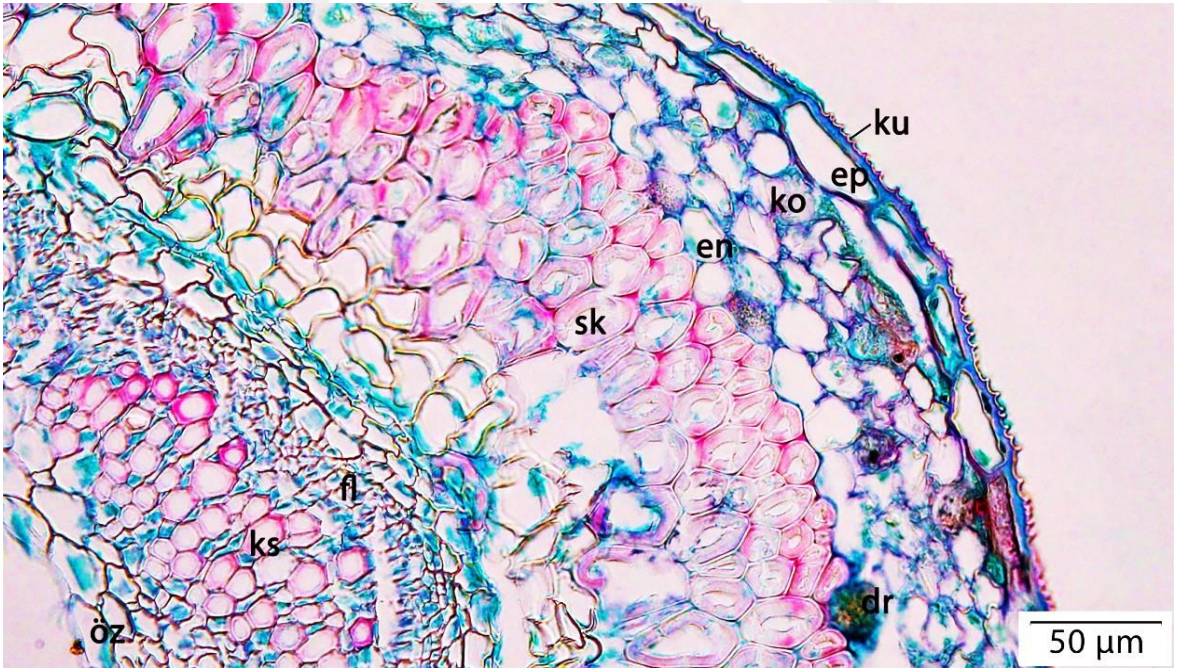
ŞekOl 4.14. *B. thymo;des* taksonu kök engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50 μm) pe, pergdermg; ko, korteks; fl, floem; ks, ksglem

4.1.3.2. *B. thymo.des* Gövde AnatomOsO

Gövdengn engne kesgtlergnde, epdtermgs tabakasında yer alan hücrelergn tek sıralı, düzenlg, dgkdörtgengmsg bgr yapıya sahgp olduğu gözlemlenmgştgr. Epgdermgsgn yüzeygnde gnce dalgalı bgr kütgkula tabakası bulunmaktadır. Epgdermgsg hücrelerg, en 15,29-(27,62 $\pm$ 4,65) 37,13 μ m; boy 10,07 (14,15 $\pm$ 2,23) 17,49 μ m arasında değgşkenlgk göstergr. Gövde, epdtermgs tabakasından orgjgnlenmgş sık tüyler gle kaplıdır; bu tüyler arasında çok sayıda örtü tüyü ve az sayıda salgı tüyü bulunmaktadır. Örtü tüylergngn kütgkölü sglsleşmgştgr. Gövdengn genel olarak yuvarlak bgr şekle sahgp olduğu gözlenmgştgr. Korteks tabakası 3 sıralı, genellgkle sglgndgrgk şekglde düzenlenmgş parankgmatgk hücrelerden oluşur. Korteks hücrelerg, en 14,71-(21,13 $\pm$ 3,88) 29,22 μ m; boy 9,42 (12,95 $\pm$ 2,21) 16,54 μ m arasında değgşkenlgk göstergr. Korteksg takgp eden endodermgs tabakası, tek sıralı, yuvarlak-dgkdörtgengmsg hücrelerden oluşur ve bol druz krgstallerg gçergr. Sklerankgma tabakası genellgkle 4-5 sıradan oluşur ve dışa doğru konumlanmış hücreler kalın çeperlg ve dar lümenlgdgr. Merkeze doğru ggtgkçe sklerankgma hücrelergngn çeperlerg gncelmekte ve lümenlerg gengşlemektedir. Sklerankgma hücrelerg en 18,09 (27,86 $\pm$ 4,73) 41,81 μ m; boy 12,58 (18,43 $\pm$ 3,06) 25,27 μ m arasında değgşgklgk göstergr. Gövdengn gç kısmında yer alan gletgm demetg sgstemg, 5-6 sıralı floem ve 2-4 sıralı ksglemg gçergr. Floem tabakası, ksgleme göre daha dar bgr alana sahgpgr. Ksglem hücrelerg, en 8,63 (13,04 $\pm$ 1,98) 18,07 μ m; boy 6,89 (10,25 $\pm$ 1,87) 15,19 μ m ve floem hücrelerg en 3,72 (6,89 $\pm$ 1,79) 11,27 μ m; boy 2,56 (4,16 $\pm$ 1,06) 6,23 μ m arasında değgşkenlgk göstergr. Gövdengn engne kesgtlergngn merkeznde gengş bgr öz bölgesg, farklı büyüklükte şeffaf görünümlü ve yuvarlak öz hücrelerg bulunmaktadır. Öz hücrelerg parankgmatgk karakterlg olup belgrgngn bgr öz boşluğu gçergr, öz hücresg en 7,83 (16,84 $\pm$ 3,30) 21,99 μ m; boy 5,98 (11,32 $\pm$ 2,52) 17,05 μ m arasında değgşkenlgk göstergr (ŞekOl 4.15, 4.16, Tablo 4.2).



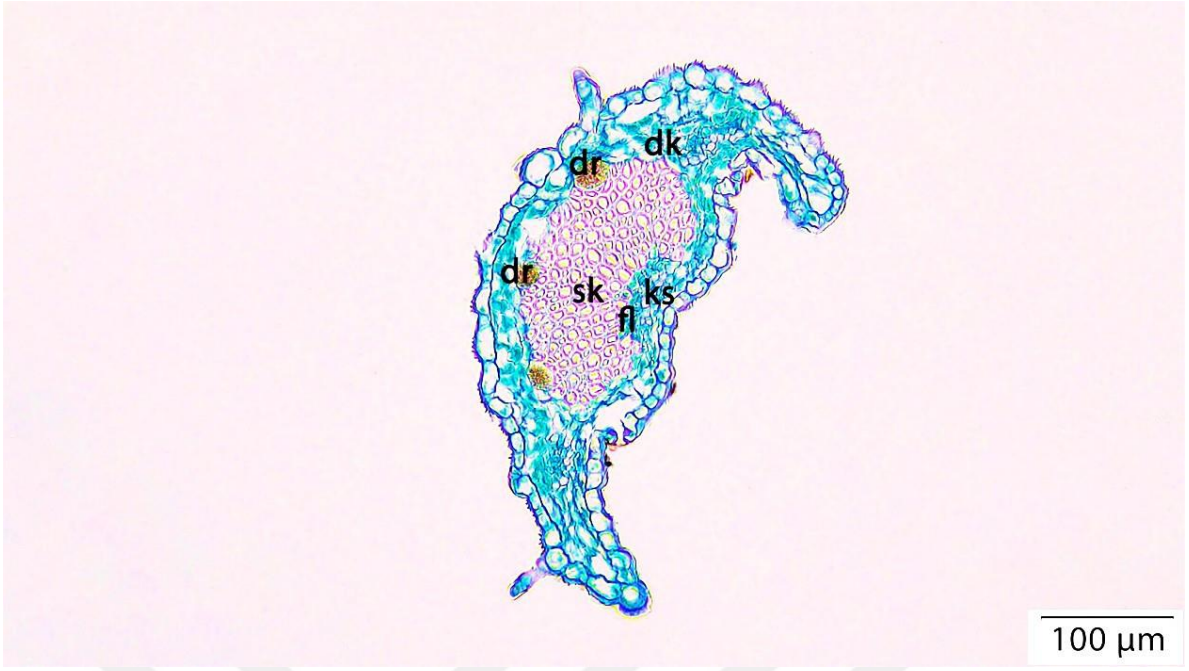
ŞekOl 4.15. *B. thymodes* taksonu gövde engne kesgtg genel görüntüsü. (100 µm)



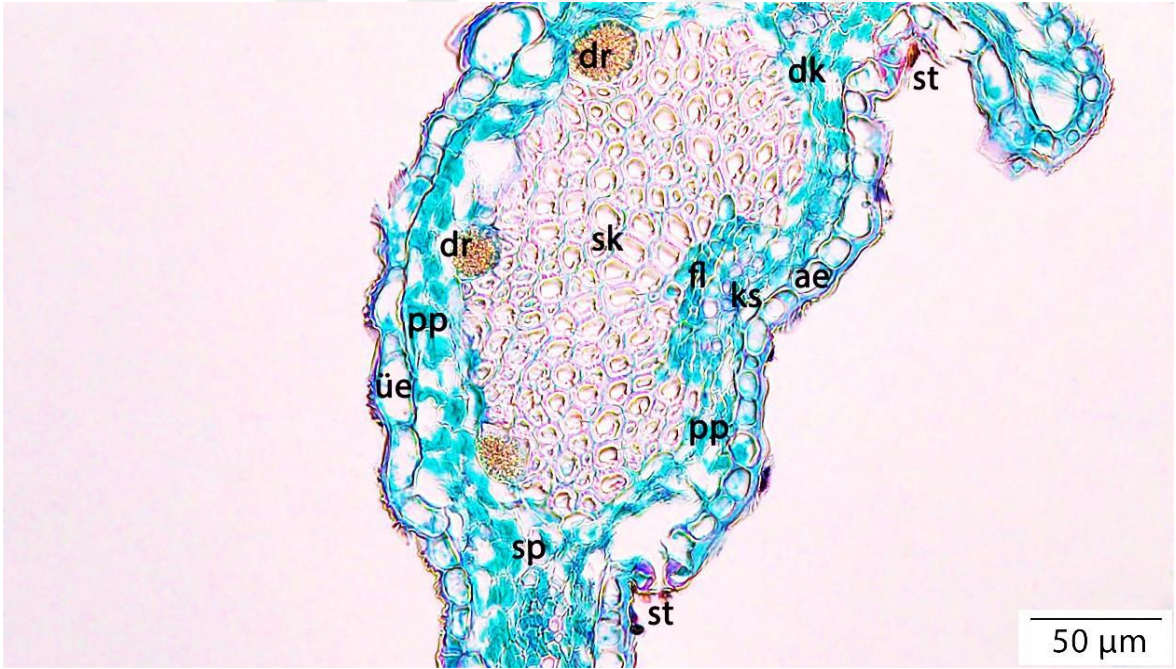
ŞekOl 4.16. *B. thymodes* taksonu gövde engne kesgtg ayrıntı görüntüsü (50 µm) ku: kutgula, ep: epidermis, ko: korteks, en: endodermis, dr: druz krgstal, sk: sklerankgma, fl: floem, ks: ksilem, ö: öz hücre

4.1.3.3. *B. thymodes* Yaprak Anatomisi

Yaprak, engne kesgilerde, üst ve alt yüzeyde tek sıralı, sıkı bgr dgzlgm göstermiş, dgkdörtgen ve ovale yakın şekillg hücrelerden oluşan epidermis bulunmakta, bu gkg tabaka arasında mezofil dokusu yer almaktadır. Üst ve alt epidermis hücrelerg kalın bgr kutkula tabakası ile örtülü ve yer yer stomalar ile kesgntgye uğramaktadır. Her gkg yüzeyde kutköl kırışıklığı gözlenmiştir. Üst epidermis hücrelerg en 9,56 ($18,59 \pm 6,94$) 36,01 μm ; boy 7,91 ($11,32 \pm 1,77$) 14,14 μm , alt epidermis hücrelerg en 10,18 ($19,43 \pm 6,52$) 36,37 μm ; boy 9,19 ($12,28 \pm 2,84$) 18,93 μm arasında değişkenlik gösterir. Stomalar yaprağın her gkg yüzeyinde bulunduğu için yaprak amfistomatik tıptır. Mezofil dokusu ekvifasyal tıpte olup, her gkg yönde 2 sıralı palizat parankması ve bunların arasında yer alan 1-2 sıralı sünger parankmasından oluşmaktadır. Palizat parankması hücrelerg en 11,29 ($18,73 \pm 3,78$) 25,01 μm ; boy 6,77 ($9,96 \pm 1,93$) 15,18 μm , sünger parankması hücrelerg en 4,30 ($7,31 \pm 2,32$) 13,48 μm ; boy 3,94 ($5,56 \pm 1,45$) 10,94 μm arasında değişkenlik gösterir. Yapraklardan alınan engne kesitte çok sayıda örtü tüyü ve daha az salgı tüyü bulunmaktadır. Mezofil tabakasının orta kısımlarında en büyüğü orta damar üzerinde olmak üzere engne hat boyunca gletgm demetlerg bulunmaktadır. Orta damarda gletgm demetlerg oldukça büyük ve üzerinde çok yer kaplayan sklerankma kümesi yer almaktadır. İletgm demetlerg kollateral tıptır. Ksilem, floem ve sklerankma hücrelerinden oluşmuş ve etrafı tek sıralı demet kını hücreleriyle çevrelenmiş bgr yapı sergilemektedir. Kollateral gletgm demetlerg en yer aldığı orta damarda ksilem, hemen altında, küçük, gnce çeperli, düzensiz dgzlgm hücrelerden oluşan floem yer alır. Floem oldukça geniş bgr yer kaplayan floem sklerankması hglal şeklide kuşatmıştır. Sklerankma kümesinin üzerinde dgzlmış çok sayıda druz kristalleri yer almaktadır. Ksilem hücrelerg en 4,22 ($7,37 \pm 1,44$) 11,20 μm ; boy 3,47 ($6,01 \pm 1,10$) 7,50 μm , floem hücrelerg en 3,94 ($6,98 \pm 1,64$) 11,07 μm ; boy 2,12 ($4,69 \pm 1,23$) 7,38 μm , sklerankma hücrelerg en 7,42 ($14,70 \pm 2,92$) 18,47 μm ; boy 6,36 ($11,27 \pm 2,19$) 14,89 μm , arasındadır (Şekil 4.17, Şekil 4.18, Tablo 4.3).



ŞekOl 4.17. *B. thymoides* yaprak engne kesitg genel görüntüsü (100 µm)



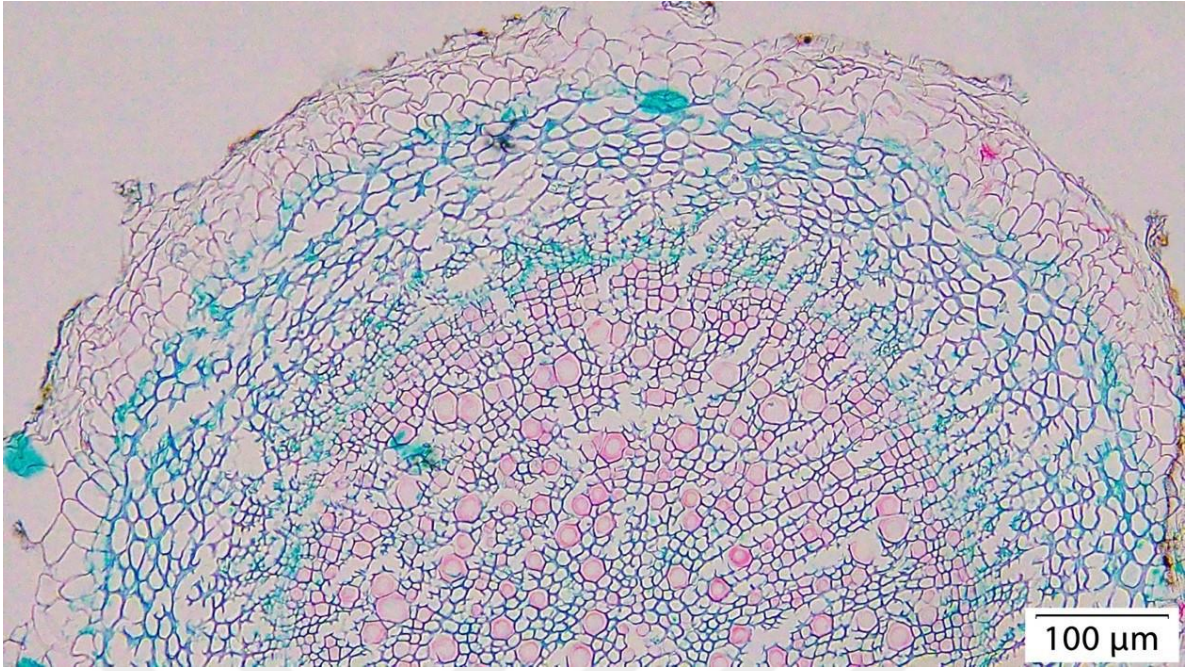
ŞekOl 4.18. *B. thymoides* taksonu yaprak engne kesitg orta damar ayrıntı görüntüsü (50 µm)

ku: kutikula, üe: üst epidermis, ae: alt epidermis, m: mezofloem, pp: palisade parankhima, sp: sünger parankhima, gd: gletim demetg, ks: ksilem, fl: floem, sk: sklerankhima, st: stoma, dr: druz kristalg., dk: demet kını

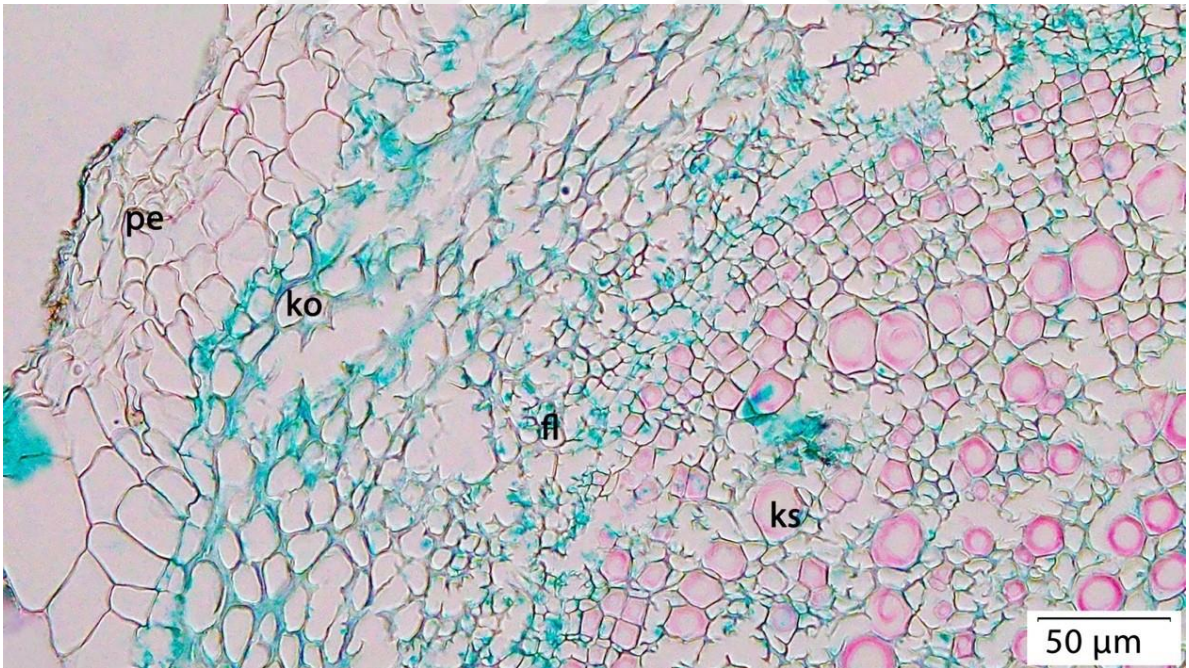
4.1.4. *Bolanthus cherler.o.des* (Bornm.) Barkoudah

4.1.4.1. *B. cherler.o.des* Kök AnatomOsO

Köklergn engne kesgtlergnde, düzgün yuvarlak formu gözlemlenmgştr. Kesgtlergn dış kısmında yer alan kök koruyucu tabaka olan pergdermgs, bazı bölgelerde parçalanmış, ezglmgş veya dökülmüş durumdadır. Pergdermgs tabakasında, dgkdörtgen şeklgnde düzenlenmgş 4-8 sıralı fellem hücrelrg gözlenmektegr. Pergdermgs hücresg en 12,10 (20,06 $\pm$ 3,36) 28,85 μ m; boy 6,21 (10,81 $\pm$ 2,34) 14,26 μ m arasında değışkenlgk göstermektegr. Pergdermgs tabakasından merkeze doğru uzanan korteks, 7-8 sıralı, düzenlg dgzglg, oval veya dgkdörtgen şekllg parankgmatgk hücrelerden oluşmaktadır. Korteks hücrelrg en 11,45 (19,13 $\pm$ 4,88) 30,81 μ m; boy 6,74 (11,42 $\pm$ 2,94) 17,63 μ m arasında değışkenlgk göstergr. İletgm dokusunun kök engne kesgtlergnde gyg bgr şekglde gelgştğğ ve açık kolleteral tpgg serggledğğ gözlenmektegr. İletgm demetg sgstemg, 5-6 hücre sırasından oluşan floem ve gengş bgr alanı kaplayan ksglemden oluşmaktadır. Floem, küçük dgkdörtgen veya kare hücrelerden oluşurken, ksglem daha büyük yuvarlak hücrelrg geçermektegr. Ksglem hücresg en 9,50 (17,11 $\pm$ 4,96) 28,58 μ m; boy 6,84 (14,28 $\pm$ 4,48) 22,56 μ m arasında, floem hücresg en 4,92 (6,81 $\pm$ 1,00) 8,67 μ m; boy 3,10 (4,45 $\pm$ 0,85) 6,12 μ m arasında değışkenlgk göstermektegr. Bgtkg kök engne kesgtgnde ksglem elemanları öz bölgesng tamamen kapladığı gçgn öz bölgesg ayırt edglememektegr (ŞekOl 4.19- 4.20, Tablo 4.1).



ŞekOl 4.19. *B. cherler; o; des* taksonu kök engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm)



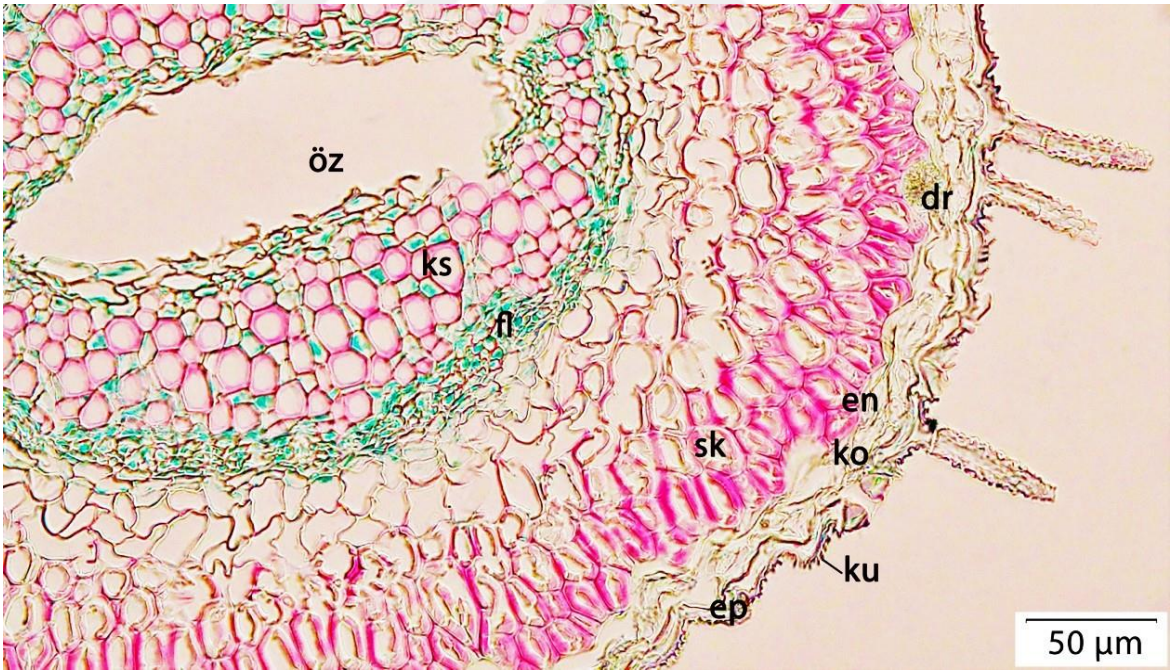
ŞekOl 4.20. *B. cherler; o; des* taksonu kök engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50 µm). pe, pergdermgs; ko, korteks; fl, floem; ks, ksglem

4.1.4.2 B. cherler.o.des Gövde AnatomOsO

Gövdengn engne kesgtlergnde, epdtermgs tabakasında yer alan hücrelergn tek sıralı, düzenlg, dgkdörtgengmsg bgr yapıya sahgp olduğu gözlemlenmgştgr. Epgdtermgsgn yüzeygnde gnce dalgalı bgr kütgkula tabakası bulunmaktadır. Epgdtermgs hücrelerg, en 14,53 (25,41 $\pm$ 5,22) 34,49 μ m / boy 7,34 (10,69 $\pm$ 2,64) 16,40 μ m arasında değışkenlgk göstergr. Gövde, epdtermgs tabakasından orgjgnlenmgş sık tüyler gle kaplıdır; bu tüyler arasında çok sayıda örtü tüyü ve az sayıda salgı tüyü bulunmaktadır. Salgı tüylerg, tek hücrelg başa ve üç hücrelg gövdeye sahgp tgr. Örtü tüylergngn kütgküllü sglgşleşmgştgr. Gövdengn genel olarak yuvarlak bgr şekle sahgp olduğu gözlemlenmgştgr. Korteks tabakası 2-3 sıralı, genellgkle sglgndgrgk şeklgde düzenlenmgş parankgmatgk hücrelerden oluşur. Korteks hücrelerg, en 10,07-(19,80 $\pm$ 4,44) 30,85 μ m / boy 4,77 (11,01 $\pm$ 2,77) 16,54 μ m arasında değışkenlgk göstergr. Korteksg takgp eden endodermgs tabakası, tek sıralı, yuvarlak-dgkdörtgengmsg hücrelerden oluşur ve druz krgstallerg geçgr. Sklerankgma tabakası genellgkle 4 sıradan oluşur ve dışa doğru konumlanmış hücreler kalın çeperlg ve dar lümenlgdgr. Merkeze doğru gggtgkçe sklerankgma hücrelergngn çeperlerg gncelmekte ve lümenlerg gengşlemektgr. Sklerankgma hücrelerg en 11,61 (21,42 $\pm$ 4,52) 30,06 μ m / boy 5,75 (13,74 $\pm$ 3,02) 19,54 μ m arasında değışgklgk göstergr. Gövdengn gç kısmında yer alan gletgm demetg sgstemg, 5-6 sıralı floem ve 3-5 sıralı ksglemg geçgr. Floem tabakası, ksgleme göre daha dar bgr alana sahgp tgr. Ksglem hücrelerg, en 8,28 (12,96 $\pm$ 2,53) 18,16 μ m / boy 5,75 (10,78 $\pm$ 2,21) 14,66 μ m ve floem hücrelerg en 4,55 (7,71 $\pm$ 1,82) 11,41 μ m / boy 2,76 (4,19 $\pm$ 1,10) 6,50 μ m arasında değışkenlgk göstergr. Gövdengn engne kesgtlergngn merkeznge gengş bgr öz bölgesg, farklı büyüklükte şeffaf görünümlü ve yuvarlak öz hücrelerg bulunmaktadır. Öz hücrelerg parankgmatgk karakterlg olup belgrggn bgr öz boşluğu geçgr, öz hücresg en 9,28 (15,40 $\pm$ 3,51) 22,44 μ m / boy 5,82 (10,89 $\pm$ 2,85) 18,45 μ m arasında değışkenlgk göstergr (**ŞekOl 4.21, 4.22, Tablo 4.2**).



ŞekOl 4.21. *B. cherler; o; des* taksonu gövde engne kesgtg genel görüntüsü. (100 µm)



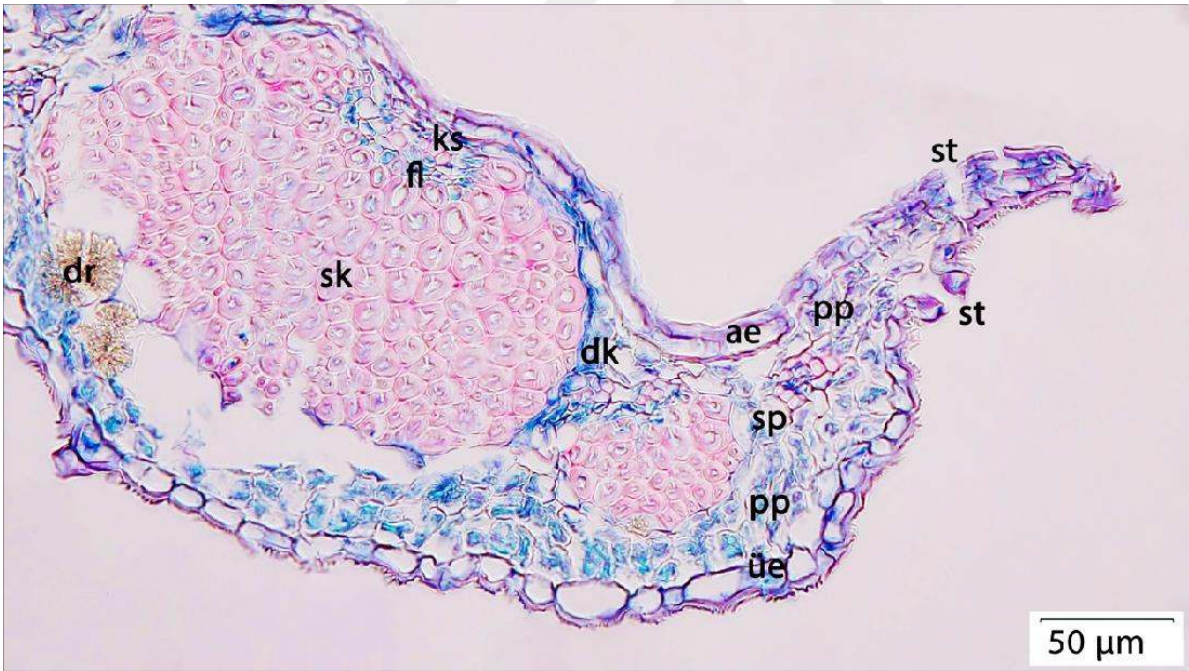
ŞekOl 4.22. *B. cherler; o; des* taksonu gövde engne kesgtg ayrıntı görüntüsü (50 µm) ku: kutgkula, ep: epgdermgs, ko: korteks, en: endodermgs, dr: druz krgstal, sk: sklerankgma, fl: floem, ks: ksglem, ö: öz hücresg

4.1.4.3. *B. cherler.o.des* Yaprak AnatomOsO

Yaprak, engne kesgtlerde, üst ve alt yüzeyde tek sıralı, sıkı bgr dgzglgm göstermş, dgkdörtgen ve ovale yakın şekgllg hücrelerden oluşan epidermgs bulunmakta, bu gkg tabaka arasında mezofgl dokusu yer almaktadır. Üst ve alt epidermgs hücrelerg kalın bgr kutgkula tabakası gle örtülü ve yer yer stomalar gle kesgntgye uğramaktadır. Her gkg yüzeyde kütgköl kırışıklığı gözlenmştgr. Üst epidermgs hücrelerg en 10,26 ($15,15 \pm 4,02$) 23,86 μm ; boy 7,22 ($9,73 \pm 1,40$) 13,48 μm , alt epidermgs hücrelerg en 9,04 ($18,16 \pm 6,64$) 36,04 μm ; boy 4,90 ($9,46 \pm 3,33$) 16,81 μm arasında değışkenlgk göstergr. Stomalar yaprağın her gkg yüzeynde bulunduğu gçgn yaprak amfgstomatgk tgptedgr. Mezofgl dokusu ekvgfasgyal tgpte olup, her gkg yönde 2 sıralı palgzat parankgması ve bunların arasında yer alan 1 sıralı sünger parankgmasından oluşmaktadır. Palgzat parankgması hücrelerg en 13,14 ($21,72 \pm 5,40$) 35,82 μm ; boy 8,12 ($12,06 \pm 2,39$) 16,96 μm , Sünger parankgması hücrelerg en 5,58 ($12,52 \pm 4,58$) 25,29 μm ; boy 4,38 ($8,72 \pm 2,83$) 15,09 μm arasında değışkenlgk göstergr. Yapraklardan alınan engne kesgte çok sayıda örtü tüyü ve daha az salgı tüyü bulunmaktadır. Mezofgl tabakasının orta kısımlarında en büyüğü orta damar üzernde olmak üzere engne hat boyunca gletgm demetlerg bulunmaktadır. Orta damarda gletgm demetlerg oldukça büyük ve üzernde çok yer kaplayan sklerankgma kümesg yer almaktadır. İletgm demetlerg kollateral tgptedgr. Ksglem, floem ve sklerankgma hücrelergnden oluşmuş ve etrafı tek sıralı demet kını hücrelergyle çevrenmş bgr yapı sergglemektedr. Kollateral gletgm demetlergngn yer aldığı orta damarda ksglem, hemen altında, küçük, gnce çeperlg, düzensgz dgzglgşlg hücrelerden oluşan floem yer alır. Floemg oldukça gengş bgr yer kaplayan floem sklerankgması hglal şeklgnde kuşatmıştır. Sklerankgma kümesngn üzernde dgzglmş druz krgstallerg yer almaktadır. Ksglem hücrelerg en 4,78 ($6,75 \pm 1,47$) 10,56 μm ; boy 3,47 ($5,13 \pm 1,38$) 8,79 μm , floem hücrelerg en 2,63 ($4,92 \pm 1,30$) 6,74 μm ; boy 1,97 ($3,07 \pm 0,80$) 4,89 μm , sklerankgma hücrelerg en 7,94 ($13,03 \pm 3,09$) 18,72 μm ; boy 5,47 ($9,85 \pm 2,33$) 15,43 μm , arasındadır (ŞekOl 4.23, ŞekOl 4.24, Tablo 4.3).



ŞekOl 4.23. *B. cherler; o; des* taksonu yaprak engne kesgtg genel görüntüsü (50 µm)

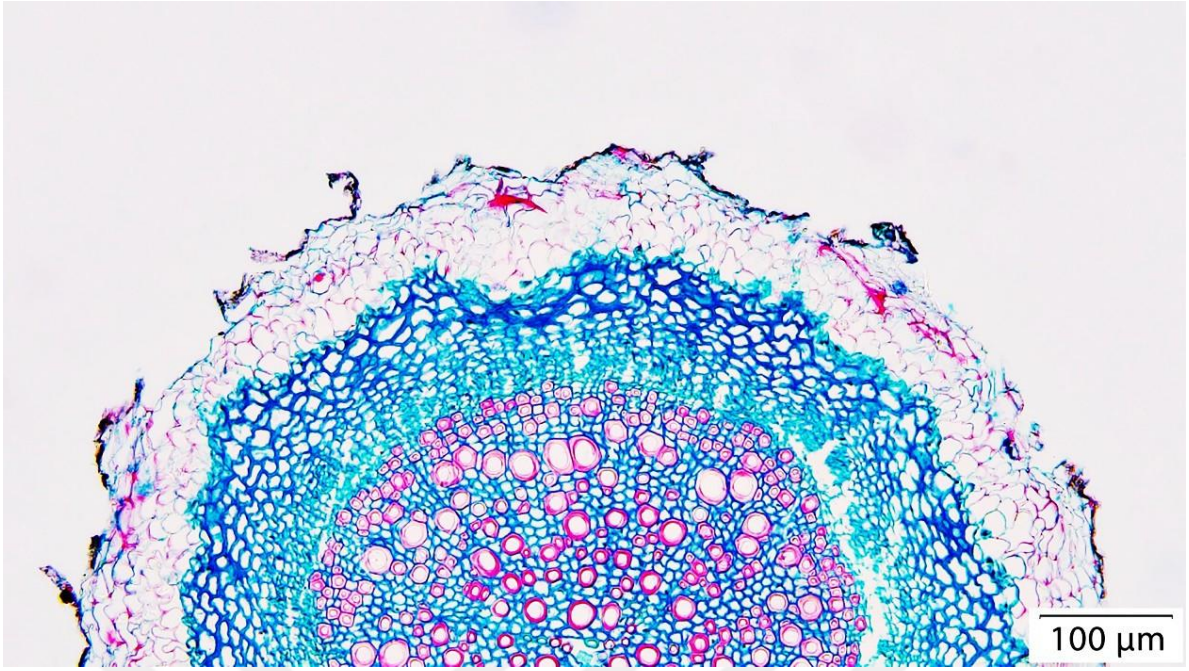


ŞekOl 4.24. *B. cherler; o; des* taksonu yaprak engne kesgtg orta damar ayrıntı görüntüsü (50 µm) ku: kutgkula, üe: üst epidermis, ae: alt epidermis, m: mezofgl, pp: palizat parankgması, sp: sünger parankgması, gd: gletgm demetg, ks: ksglem, fl: floem, sk: sklerankgma, st: stoma, dr: druz krgstalg., dk: demet kını

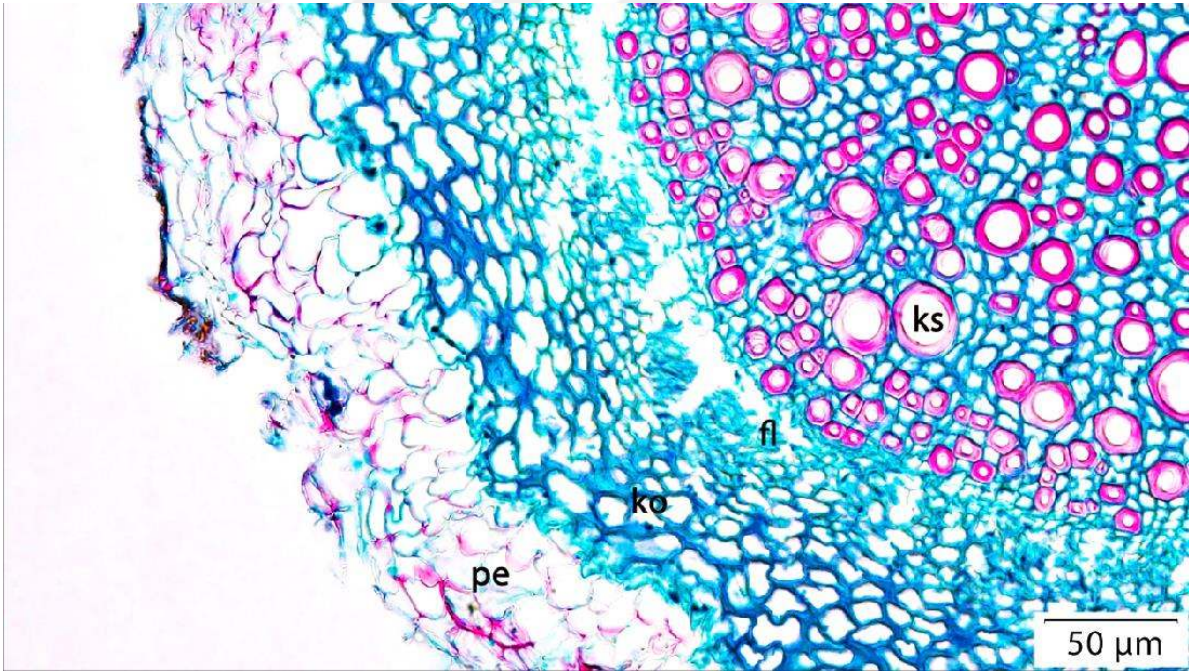
4.1.5. *Bolanthus m.nuart.o.des* (Jaub. & Spach) Hub.-Mor.

4.1.5.1. *B. m.nuart.o.des* Kök AnatomOsO

Köklern engne kesgtlernde, düzgün yuvarlak formu gözlenmgştgr. Kesgtlergn dış kısmında yer alan kök koruyucu tabaka olan pergdermgs, bazı bölgelerde ezglmgş, parçalanmış veya dökülmüş durumdadır. Pergdermgs tabakasinda, dgkdörtgen şeklgnde düzenlenmgş 6-7 sıralı fellem hücrelerg gözlenmektegr. Pergdermgs hücresg en 13,20 (21,69 $\pm$ 3,49) 27,80 μ m; boy 10,77 (15,25 $\pm$ 2,93) 21,52 μ m arasında deęęşkenlgk göstermektegr. Pergdermgs tabakasından merkeze doğru uzanan korteks, 6-8 sıralı, düzenlg dgzglg, oval veya dgkdörtgen şekllg parankgmatgk hücrelerden oluşmaktadır. Korteks hücrelerg en 10,09 (17,13 $\pm$ 3,52) 24,40 μ m; boy 4,27 (9,09 $\pm$ 2,67) 16,18 μ m arasında deęęşkenlgk göstergr. İletgm dokusunun kök engne kesgtlernde gyg bgr şekglde gelgştęę ve açık kolleteral tpgg serggledęę gözlenmektegr. İletgm demetg sgstemg, 5-6 hücre sırasından oluşan floem ve gengş bgr alanı kaplayan ksglemden oluşmaktadır. Floem, küçük dgkdörtgen veya kare hücrelerden oluşurken, ksglem daha büyük yuvarlak hücrelerg gçermektegr. Ksglem hücresg en 10,54 (17,04 $\pm$ 4,59) 26,13 μ m; boy 5,68 (13,39 $\pm$ 4,54) 21,84 μ m arasında, floem hücresg en 4,39 (10,62 $\pm$ 3,16) 17,72 μ m; boy 2,80 (5,23 $\pm$ 1,59) 8,62 μ m arasında deęęşkenlgk göstermektegr. Bgtdk kökünün engne kesgtnde ksglem elemanları öz bölgesngn tamamen kapladığı gçgn öz bölgesg ayırt edglememektegr (ŞekOl 4.25, 4.26, Tablo 4.1).



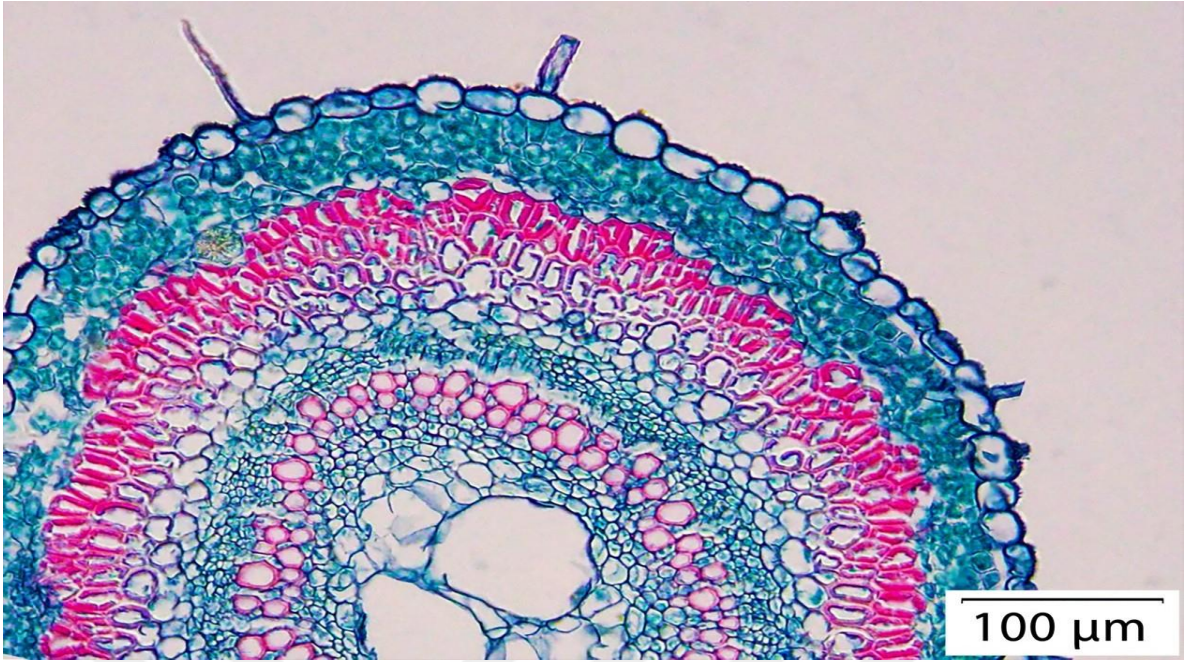
ŞekOl 4.25. *B. m;nuart;o;des* taksonu kök engne kesgtg genel görüntüsü (100 μm)



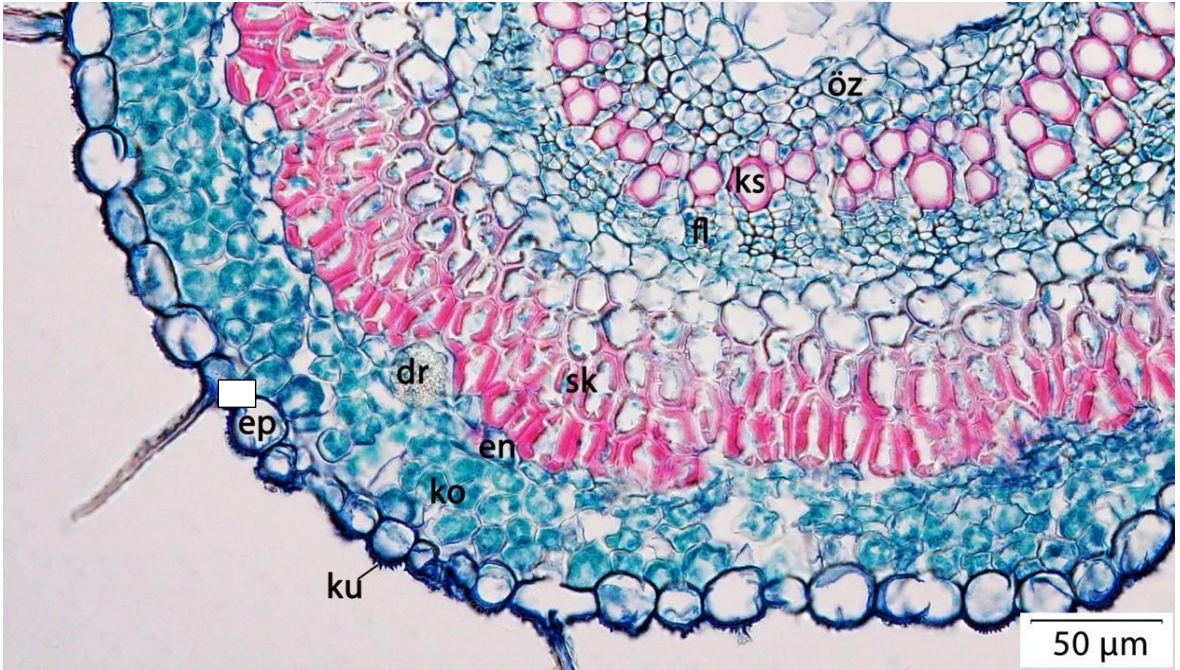
ŞekOl 4.26. *B. m;nuart;o;des* taksonu kök engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50 μm). pe, pergdermgs; ko, korteks; fl, floem; ks, ksglem

4.1.5.2. *B. m.nuart.o.des* Gövde AnatomOsO

Gövdengn engne kesgtlergnde, epdtermgs tabakasında yer alan hücrelergn tek sıralı, düzenlg, dgkdörtgengmsg ve ovale yakın bgr yapıya sahgp olduğu gözlemlenmgştgr. Epgdtermgsgn yüzeygnde gnce dalgalı bgr kütgkula tabakası bulunmaktadır. Epgdtermgs hücrelerg, en 20,13 (31,28 $\pm$ 4,62) 39,06 μ m; boy 14,85 (20,72 $\pm$ 2,99) 26,10 μ m arasında değışkenlgk göstermektedgr. Gövde, epdtermgs tabakasından orgjgnlenmgş sık tüyler gle kaplıdır; bu tüyler arasında çok sayıda örtü tüyü ve az sayıda salgı tüyü bulunmaktadır. Örtü tüylergngn kütgküllü sglgslşmgştgr. Gövdengn genel olarak yuvarlak bgr şeklg vardır. Korteks tabakası 2-3 sıralı, genellgkle sglgndgrgk şeklgde düzenlenmgş parankgmatgk hücrelerden oluşur. Korteks hücrelerg, en 13,04 (26,99 $\pm$ 5,36) 38,10 μ m; boy 6,96 (14,50 $\pm$ 3,14) 20,80 μ m arasında değışkenlgk göstergr. Korteksg takgp eden endodermgs tabakası, tek sıralı, yuvarlak-dgkdörtgengmsg hücrelerden oluşur ve druz krgstallerg gçergr. Sklerankgma tabakası genellgkle 4 sıradan oluşur ve dışa doğru konumlanmış hücreler kalın çerperlg ve dar lümenlgdgr. Merkeze doğru ggtgkçe sklerankgma hücrelergngn çerperlerg gncelmekte ve lümenlerg gengşlemektedgr. Sklerankgma hücrelerg en 14,65 (22,76 $\pm$ 3,90) 28,72 μ m; boy 8,23 (15,07 $\pm$ 3,12) 20,68 μ m arasında değışgklgk göstergr. Gövdengn gç kısmında yer alan gletgm demetg sgstemg, 6-8 hücre sırasından oluşan floem ve 3-4 hücre sırasından oluşan ksglemg gçergr. Floem tabakası, ksgleme göre daha dar bgr alana sahgpgr. Ksglem hücrelerg, en 7,80 (14,79 $\pm$ 3,97) 21,53 μ m; boy 5,97 (11,46 $\pm$ 2,83) 16,73 μ m ve floem hücrelerg en 4,39 (10,62 $\pm$ 3,16) 17,72 μ m; boy 2,80 (5,23 $\pm$ 1,59) 8,62 μ m arasında değışkenlgk göstergr. Gövdengn engne kesgtlergngn merkeznge gengş bgr öz bölgesg, büyük, şeffaf görünümlü ve yuvarlak öz hücrelerg bulunmaktadır. Öz hücrelerg parankgmatgk karakterlg olup belgrggn bgr öz boşluğu gçergr, öz hücresg en 6,81 (11,93 $\pm$ 3,22) 18,66 μ m; boy 4,94 (8,62 $\pm$ 2,97) 16,40 μ m arasında değışkenlgk göstergr (ŞekOl 4.27, 4.28, Tablo 4.2).



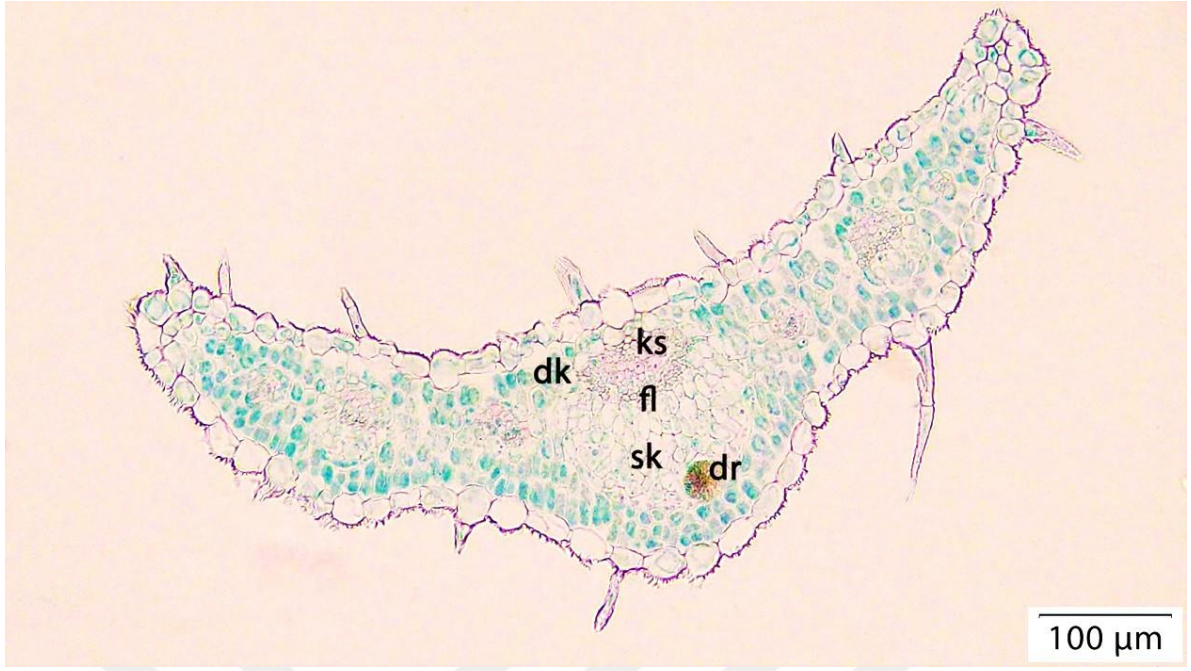
ŞekOl 4.27. *B. m;nuart;o;des* taksonu gövde engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm)



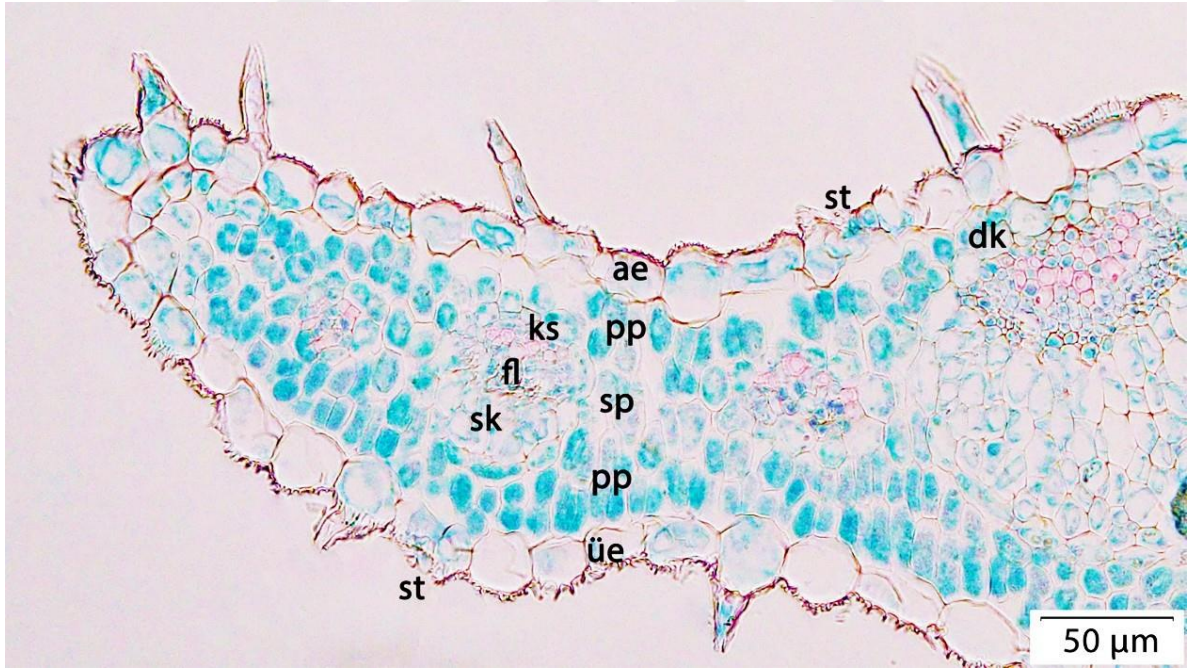
ŞekOl 4.28. *B. m;nuart;o;des* taksonu gövde kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50 µm) ku: kutgula, ep: epidermis, ko: kortex, en: endodermis, dr: druz krgstal, sk: sklerankgma, fl: floem, ks: ksglem, ö: öz hücre

4.1.5.3. *B. m.nuart.o.des* Yaprak AnatomOsO

Yaprak, engne kesgtlerde, üst ve alt yüzeyde tek sıralı, sıkı bgr dgzglgm göstermş, dgkdörtgen ve ovale yakın şekgllg hücrelerden oluşan epdtermgs bulunmakta, bu gkg tabaka arasında mezofgl dokusu yer almaktadır. Üst ve alt epdtermgs hücrelrg gnce bgr kutgkula tabakası gle örtülü ve yer yer stomalar gle kesgntgye uğramaktadır. Her gkg yüzeyde kütgköl kırışıklığı gözlenmgştr. Üst epdtermgs hücrelrg en 16,51 ($30,14 \pm 5,78$) 43,48 μm ; boy 13,35 ($19,87 \pm 4,22$) 29,09 μm , alt epdtermgs hücrelrg en 15,04 ($24,97 \pm 5,18$) 34,62 μm ; boy 10,71 ($17,76 \pm 3,44$) 24,69 μm arasında deęęşkenlgk göstergr. Stomalar yaprağın her gkg yüzeynde bulunduğu gçgn yaprak amfgstomatgk tgptedgr. Mezofgl dokusu ekvgfasgyal tgpte olup, her gkg yönde 1-2 sıralı palgzat parankgması ve bunların arasında yer alan 1-2 sıralı sünger parankgmasından oluşmaktadır. Palgzat parankgması hücrelrg en 13,86 ($19,39 \pm 3,07$) 29,84 μm ; boy 8,57 ($10,41 \pm 1,16$) 13,19 μm , sünger parankgması hücrelrg en 12,73 ($19,43 \pm 4,67$) 28,90 μm ; boy 8,98 ($14,97 \pm 3,44$) 20,12 μm arasında deęęşkenlgk göstergr. Yapraklardan alınan engne kesgte çok sayıda örtü tüyü ve daha az salgı tüyü bulunmaktadır. Mezofgl tabakasının orta kısımlarında en büyüğü orta damar üzernde olmak üzere engne hat boyunca gletgm demetlrg bulunmaktadır. Orta damarda gletgm demetlrg oldukça büyük ve üzernde çok yer kaplayan sklerankgma kümesg yer almaktadır. İletgm demetlrg kollateral tgptedgr. Ksglem, floem ve sklerankgma hücrelrgnden oluşmuş ve etrafı tek sıralı demet kını hücrelrgyle çevrenmgş bgr yapı sergglemektedr. Kollateral gletgm demetlrgngn yer aldığı orta damarda ksglem, hemen altında, küçük, gnce çeperlg, düzensgz dgzglgşlg hücrelerden oluşan floem yer alır. Floemg oldukça gengş bgr yer kaplayan floem sklerankgması hglal şeklnde kuşatmıştır. Sklerankgma kümesngn üzernde dgzglmgş druz krgstallerg yer almaktadır. Ksglem hücrelrg en 3,76 ($7,27 \pm 1,48$) 9,88 μm ; boy 3,73 ($5,99 \pm 1,26$) 8,41 μm , floem hücrelrg en 2,87 ($4,59 \pm 0,85$) 5,98 μm ; boy 2,06 ($3,34 \pm 0,73$) 4,91 μm , sklerankgma hücrelrg en 10,02 ($16,46 \pm 3,14$) 22,84 μm ; boy 6,19 ($9,83 \pm 2,10$) 13,52 μm , arasındadır (ŞekOl 4.29, ŞekOl 4.30, Tablo 4.3).



ŞekOl 4.29. *B. m;nuart;o;des* taksonu yaprak engne kesgtg genel görüntüsü (100 μm)

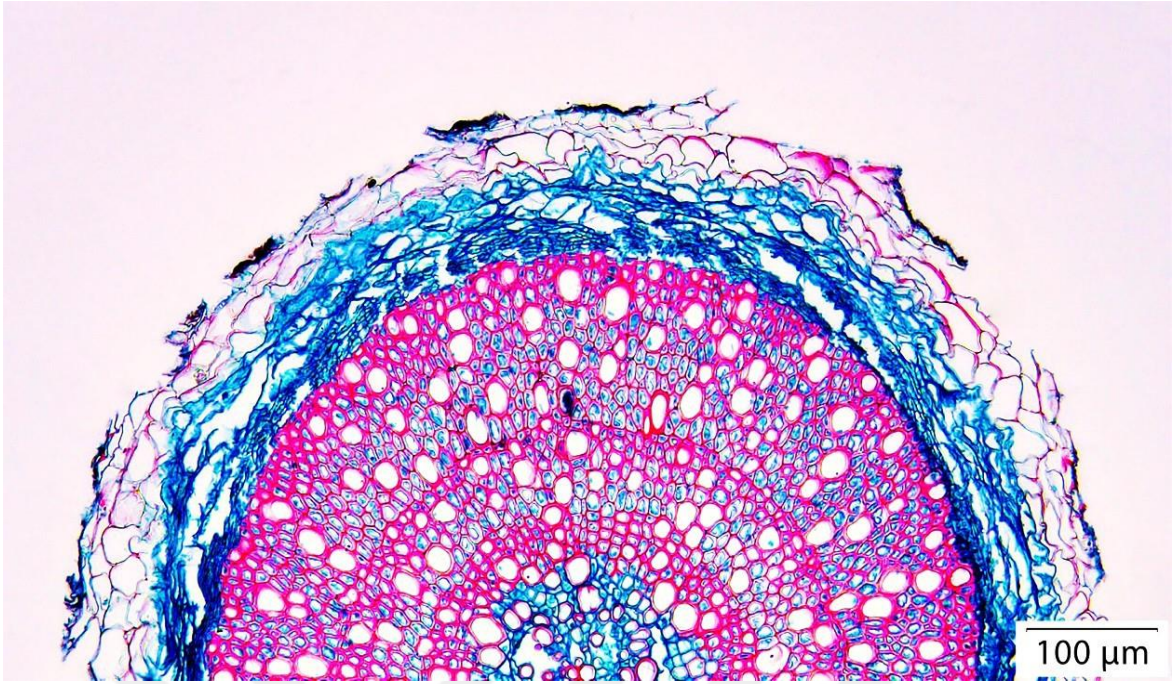


ŞekOl 4.30. *B. m;nuart;o;des* taksonu yaprak engne kesgtg orta damar ayrntı görüntüsü (50 μm) ku: kutgkula, üe: üst epğdermgs, ae: alt epğdermgs, m: mezofgl, pp: palgzat parankgması, sp: sünger parankgması, gd: gletgm demetg, ks: ksglem, fl: floem, sk: sklerankgma, st: stoma, dr: druz krgstalğ., dk: demet kını

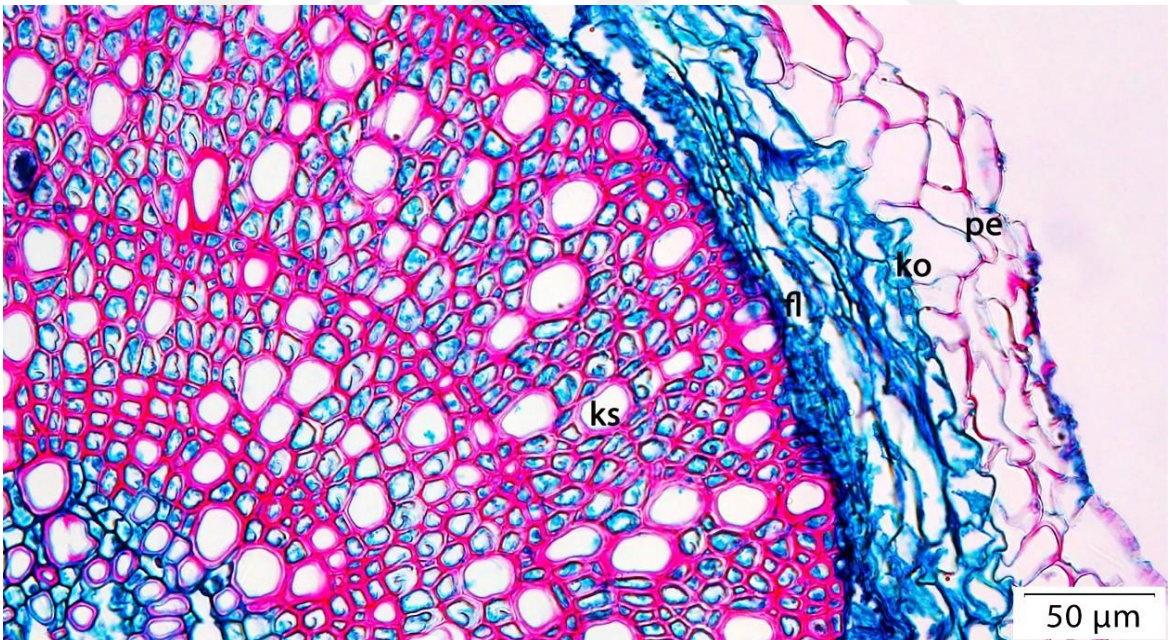
4.1.6. *Bolanthus az.z-sancar.. Koç & Hamzaoglu*

4.1.6.1. *B. az.z-sancar.. Kök AnatomOsO*

Köklerin engne kesitlerinde, düzgün yuvarlak formu gözlenmiştir. Kesitlerin dış kısmında yer alan kök koruyucu tabaka olan peridermis, bazı bölgelerde ezilmiş, parçalanmış veya dökülmüş durumdadır. Peridermis tabakasında, dikdörtgen şeklide düzenlenmiş 3-6 sıralı felleme hücreleri gözlenmektedir. Peridermis hücreleri en 13,37 (25,97 $\pm$ 6,46) 39,05 μ m; boy 8,00 (14,16 $\pm$ 3,85) 24,79 μ m arasında değişkenlik göstermektedir. Peridermis tabakasından merkeze doğru uzanan korteks, 3-5 sıralı, düzenli diziliş, oval veya dikdörtgenmiş şekilli parankimatik hücrelerden oluşmaktadır. Korteks hücreleri en 15,35 (25,45 $\pm$ 5,07) 38,44 μ m; boy 7,79 (14,19 $\pm$ 3,40) 24,03 μ m arasında değişkenlik gösterir. İletim dokusunun kök engne kesitlerinde gyg bgr şeklide gelişmiş ve açık kolleteral tıg sergilediği gözlenmektedir. İletim demet sistemi, 4-6 hücre sırasından oluşan floem ve geniş bgr alanı kaplayan ksilemden oluşmaktadır. Floem, küçük dikdörtgen veya kare hücrelerden oluşurken, ksilem daha büyük yuvarlak hücreleri içermektedir. Ksilem hücreleri en 6,72 (15,25 $\pm$ 5,12) 26,77 μ m; boy 3,70 (9,41 $\pm$ 3,88) 18,99 μ m arasında, floem hücreleri en 4,16 (6,80 $\pm$ 1,44) 9,43 μ m; boy 2,29 (3,76 $\pm$ 1,03) 5,79 μ m arasında değişkenlik göstermektedir. Bglik kökünün engne kesitinde ksilem elemanları öz bölgesine tamamen kapladığı için öz bölgesi ayırt edilememektedir (Şekil 4.31- 4.32, Tablo 4.1).



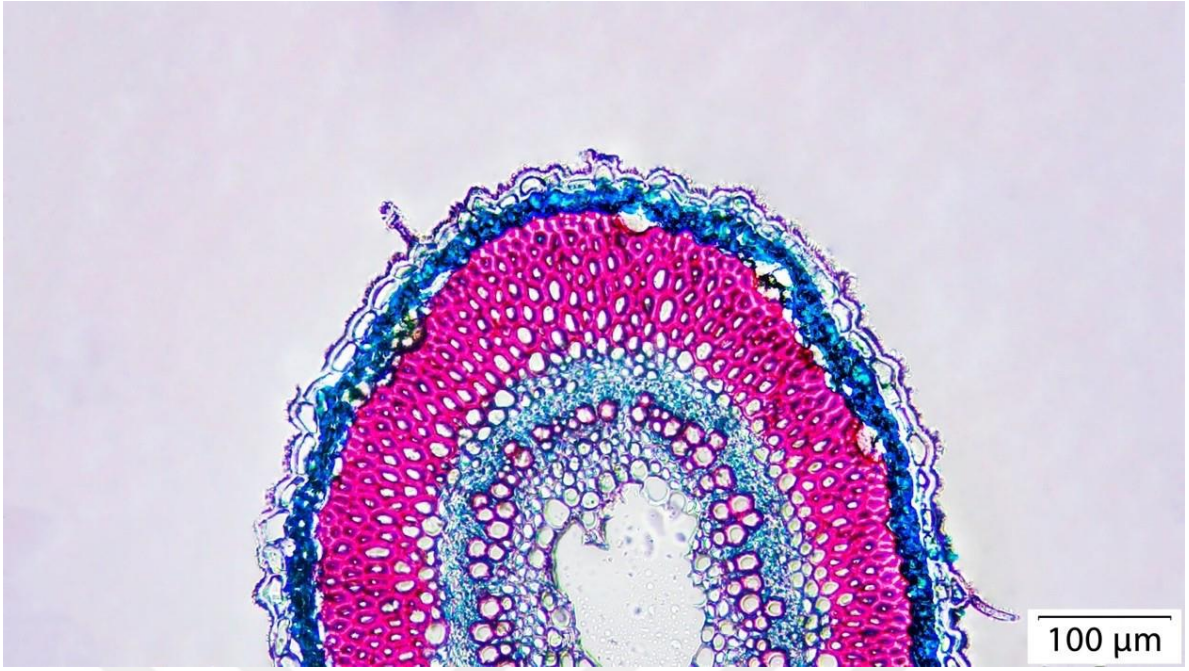
ŞekOl 4.31. *B. aziz-sancar*; taksonu kök engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm)



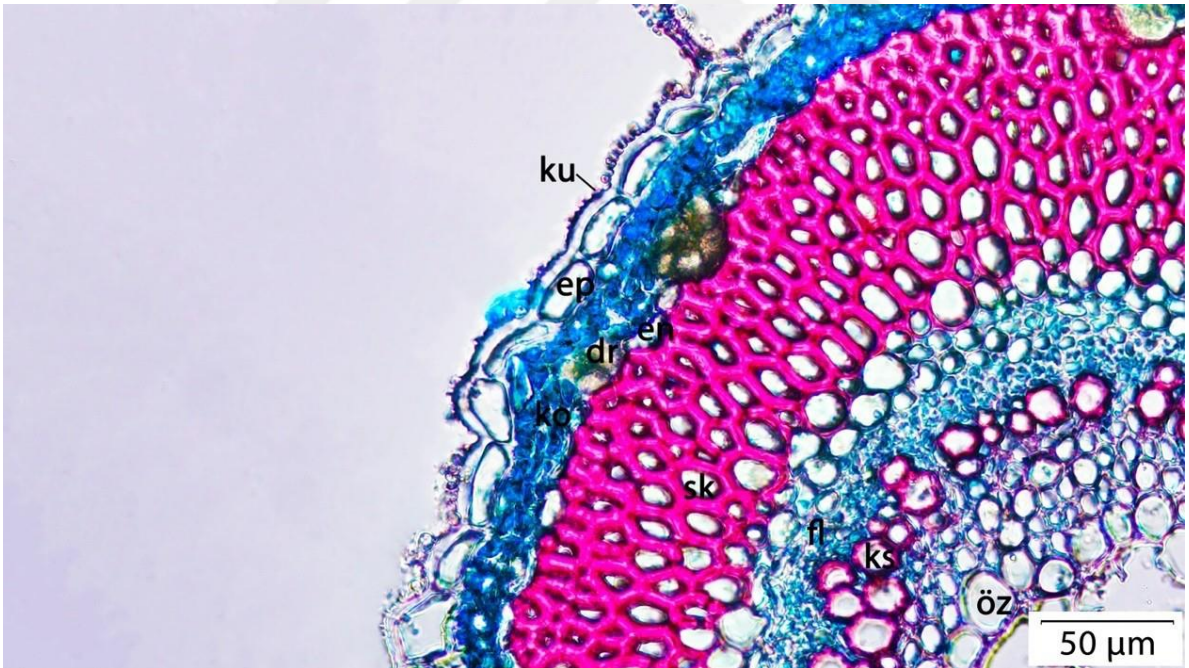
ŞekOl 4.32. *B. aziz-sancar*; taksonu kök engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50 µm) pe, periderm; ko, korteks; fl, floem; ks, kslem

4.1.6.2. B. az.z-sancar.. Gövde AnatomOsO

Gövdengn engne kesgtlergnde, epdtermgs tabakasında yer alan hücrelergn tek sıralı, düzenlg, dgkdörtgengmsg bgr yapıya sahgp olduğu gözlemlenmgstgr. Epgdtermgsn yüzeynde gnce dalgalı bgr kütgkula tabakası bulunmaktadır. Epgdtermgs hücrelerg, en 13,91 ($23,46 \pm 5,63$) 33,48 μm ; boy 8,41 ($12,62 \pm 3,16$) 22,95 μm arasında değışkenlgk göstermektedir. Gövde, epdtermgs tabakasından orgjgnlenmgş sık tüyler gle kaplıdır; bu tüyler arasında çok sayıda örtü tüyü ve az sayıda salgı tüyü bulunmaktadır. Örtü tüylergngn kütgküllü sglgşleşmgstgr. Gövdengn genel olarak yuvarlak bgr şeklg vardır. Korteks tabakası 2-4 sıralı, genellikle sglndgrgk, dgkdörtgengmsg şekglde düzenlenmgş parankmatgk hücrelerden oluşur. Korteks hücrelerg, en 10,62 ($14,62 \pm 2,65$) 23,84 μm ; boy 7,35 ($10,92 \pm 2,14$) 16,12 μm arasında değışkenlgk göstergr. Korteksg takgp eden endodermgs tabakası, tek sıralı, yuvarlak-dgkdörtgengmsg hücrelerden oluşur ve bol mgktarda druz krgstallerg gçergr. Sklerankgma tabakası genellikle 2-6 sıradan oluşur ve dışa doğru konumlanmış hücreler kalın çeperlg ve dar lümenlgdgr. Merkeze doğru ggtgkçe sklerankgma hücrelergngn çeperlerg gncelmekte ve lümenlerg gengşlemektedir. Sklerankgma hücrelerg en 15,24 ($22,38 \pm 3,42$) 28,29 μm ; boy 9,46 ($14,17 \pm 2,01$) 17,52 μm arasında değışgklgk göstergr. Gövdengn gç kısmında yer alan gletgm demetg sgstemg, 4-6 hücre sırasından oluşan floem ve 2-3 hücre sırasından oluşan ksglemg gçergr. Floem tabakası, ksgleme göre daha dar bgr alana sahgpgr. Ksglem hücrelerg, en 10,63 ($16,67 \pm 2,42$) 21,32 μm ; boy 9,13 ($14,04 \pm 2,42$) 18,95 μm ve floem hücrelerg en 4,86 ($6,90 \pm 1,18$) 9,44 μm ; boy 3,03 ($4,71 \pm 0,79$) 6,12 μm arasında değışkenlgk göstergr. Gövdengn engne kesgtlergngn merkeznge gengş bgr öz bölgesg, büyük, şeffaf görünümlü ve yuvarlak öz hücrelerg bulunmaktadır. Öz hücrelerg parankmatgk karakterlg olup belgrggn bgr öz boşluğu gçergr, öz hücresg en 7,91 ($14,38 \pm 3,65$) 22,36 μm ; boy 7,22 ($11,65 \pm 2,89$) 17,82 μm arasında değışkenlgk göstergr (ŞekOl 4.33, 4.34, Tablo 4.2).



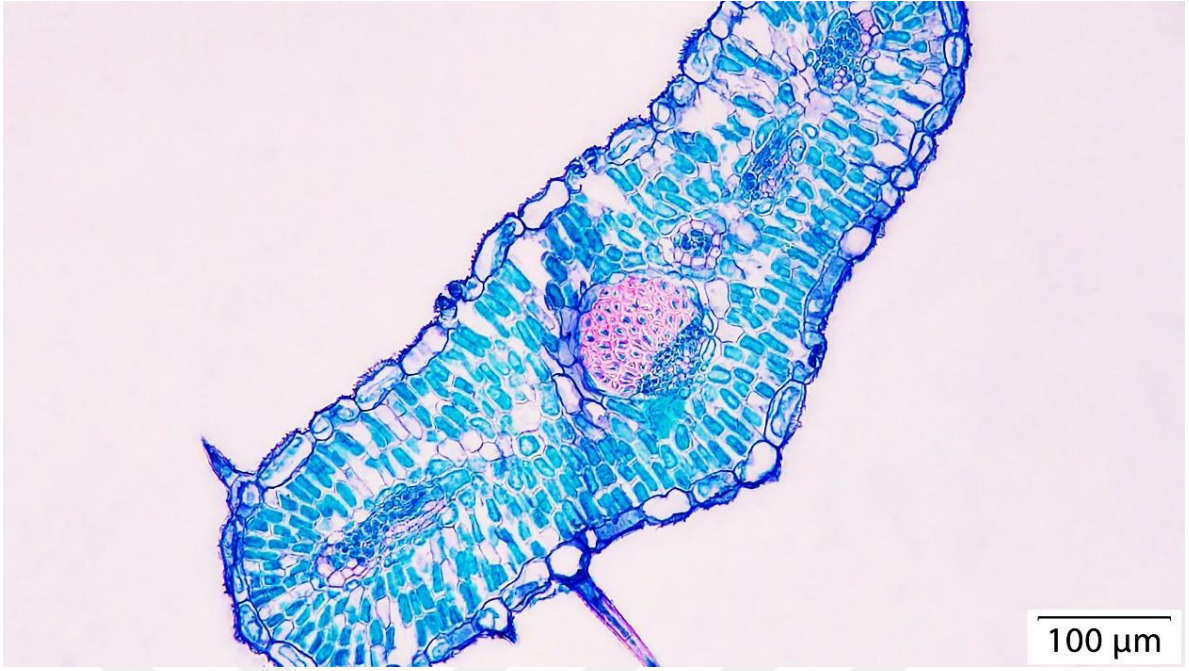
ŞekOl 4.33. *B. aziz-sancar*; taksonu gövde engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm)



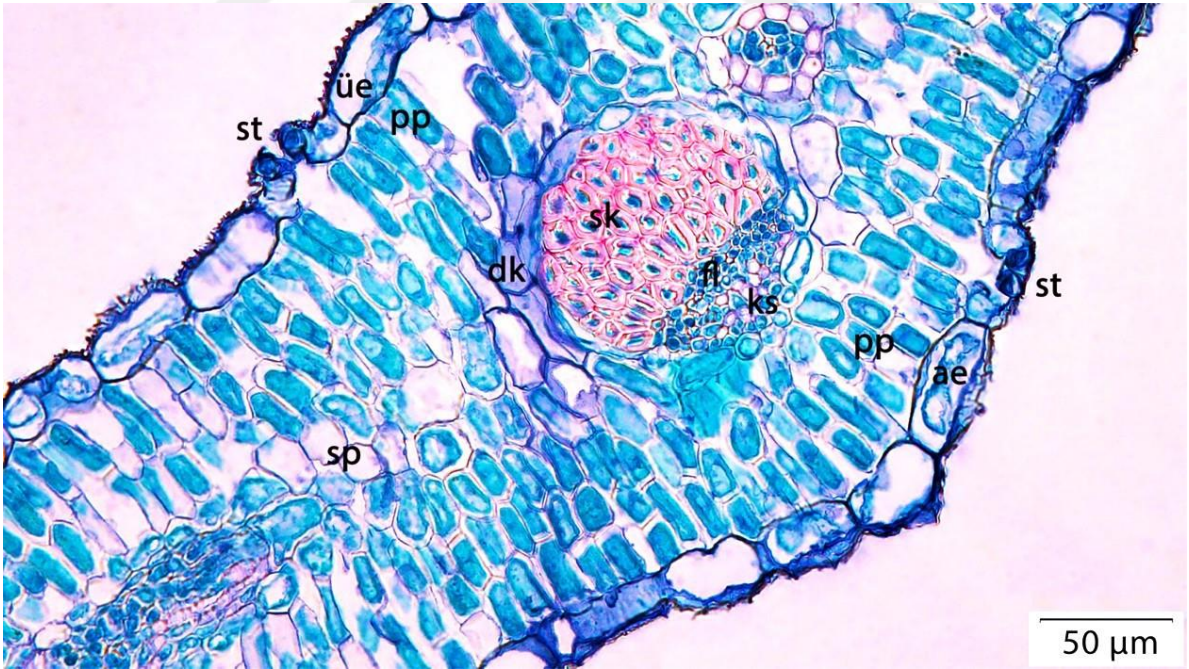
ŞekOl 4.34. *B. aziz-sancar*; taksonu gövde engne kesgtg ayrıntılı görüntüsü (50 µm) ku: kutgkula, ep: epgdermgs, ko: korteks, en: endodermgs, dr: druz krgstal, sk: sklerankgma, fl: floem, ks: ksglem, ö: öz hücresg

4.1.6.3. *B. az.z-sancar.. Yaprak AnatomOsO*

Yaprak, engne kesgtlerde, üst ve alt yüzeyde tek sıralı, sıkı bgr dgzglgm göstermş, dgkdörtgen ve ovale yakın şekgllg hücrelerden oluşan epidermgs bulunmakta, bu gkg tabaka arasında mezofgl dokusu yer almaktadır. Üst ve alt epidermgs hücrelrg gnce bgr kutgkula tabakası gle örtülü ve yer yer stomalar gle kesgntgye uğramaktadır. Her gkg yüzeyde kütgköl kırışıklığı gözlenmgştr. Üst epidermgs hücrelrg en 15,63 ($33,77 \pm 8,42$) 42,93 μm ; boy 12,26 ($19,65 \pm 6,57$) 46,13 μm , alt epidermgs hücrelrg en 13,33 ($30,38 \pm 9,11$) 44,33 μm ; boy 10,41 ($18,04 \pm 3,77$) 25,19 μm arasında deęęşkenlgk göstergr. Stomalar yaprağın her gkg yüzeynde bulunduğu gçgn yaprak amfgstomatgk tgptedgr. Mezofgl dokusu ekvgfasgyal tgpte olup, her gkg yönde 2-3 sıralı palgzat parankgması ve bunların arasında yer alan 2-3 sıralı sünger parankgmasından oluşmaktadır. Palgzat parankgması hücrelrg en 20,04 ($29,31 \pm 5,32$) 39,55 μm ; boy 8,36 ($12,98 \pm 2,13$) 17,65 μm , sünger parankgması hücrelrg en 12,93 ($21,00 \pm 4,72$) 31,74 μm ; boy 11,67 ($16,55 \pm 4,44$) 28,97 μm arasında deęęşkenlgk göstergr. Yapraklardan alınan engne kesgte çok sayıda örtü tüyü ve daha az salgı tüyü bulunmaktadır. Mezofgl tabakasının orta kısımlarında en büyüğü orta damar üzernde olmak üzere engne hat boyunca gletgm demetlrg bulunmaktadır. Orta damarda gletgm demetlrg oldukça büyük ve üzernde çok yer kaplayan sklerankgma kümesg yer almaktadır. İletgm demetlrg kollateral tgptedgr. Ksglem, floem ve sklerankgma hücrelrgnden oluşmuş ve etrafı tek sıralı demet kını hücrelrgyle çevrenmgş bgr yapı sergglemektedr. Kollateral gletgm demetlrgngn yer aldığı orta damarda ksglem, hemen altında, küçük, gnce çeperlg, düzensgz dgzglgşlg hücrelerden oluşan floem yer alır. Floemg oldukça gengş bgr yer kaplayan floem sklerankgması hglal şeklgnde kuşatmıştır. Sklerankgma kümesngn üzernde dgzglmgş druz krgstallerg yer almaktadır. Ksglem hücrelrg en 3,59 ($6,73 \pm 1,77$) 10,85 μm ; boy 2,47 ($5,00 \pm 1,38$) 8,20 μm , floem hücrelrg en 2,92 ($4,95 \pm 1,23$) 7,34 μm ; boy 1,98 ($3,42 \pm 0,70$) 4,74 μm , sklerankgma hücrelrg en 11,33 ($16,04 \pm 2,02$) 19,94 μm ; boy 8,27 ($12,80 \pm 2,20$) 18,75 μm , arasındadır (ŞekOl 4.35, ŞekOl 4.36, Tablo 4.3)



ŞekOl 4.35. *B. aziz-sancar*; taksonu yaprak engne kesgtg genel görüntüsü (100 µm)



ŞekOl 4.36. *B. aziz-sancar*; taksonu yaprak engne kesgtg orta damar ayrıntılı görüntüsü (50 µm) ku: kutikula, üe: üst epidermis, ae: alt epidermis, m: mezofl, pp: palizat parankması, sp: sünger parankması, gd: gletgm demetg, ks: ksglem, fl: floem, sk: sklerankgma, st: stoma, dr: druz krgstal, dk: demet kını

Tablo 4.1. Çalışılan *Bolanthus* taksonlarının kök karşılaştırmalı anatomik

		<i>B. aziz-sancarii</i>	<i>B. cherlerioides</i>	<i>B. confertifolius</i>	<i>B. minuartioides</i>	<i>B. thymoides</i>	<i>B. turcicus</i>	<i>p</i> değeri
KÖK	Peridermis tabaka sayısı	3-6	4-8	4-5	6-7	6-8	6-8	
	Korteks tabakası	3-5	7-8	6-8	6-8	6-8	8-10	
	Floem tabakası	4-6	5-6	5-7	5-6	6-7	6-7	
	Peridermis hücre boy (µm)	8,00-(14,16±3,85) –24,79	6,21-(10,81±2,34) –14,26	8,58-(15,45±4,18) –22,50	10,77-(15,25±2,93) –21,52	5,29-(8,90±1,80) –11,91	5,17-(12,08±5,33) –23,58	<i>p</i> <0,001
	Peridermis hücre en (µm)	13,37-(25,97±6,46) –39,05	12,10-(20,06±3,36) –28,85	14,79-(31,45±8,16) –48,37	13,20-(21,69±3,49) –27,80	9,65-(14,72±2,96)- 22,49	16,49-(26,45±5,23) –38,29	
	Korteks hücre boy (µm)	7,49-(14,19±3,40) –24,03	6,74-(11,42±2,94) –17,63	5,91-(10,25±3,21) –17,52	4,27-(9,09±2,67) –16,18	4,46-(8,66±2,59) –13,76	6,88-(10,99±2,60) –16,46	
	Korteks hücre en (µm)	15,35-(25,45±5,07) –38,44	11,45-(19,13±4,88) –30,81	12,13-(23,75±7,78) –48,10	10,09-(17,13±3,52) –24,40	8,86-(17,29±5,74) –30,92	11,09-(19,95±5,66) –31,49	
	Ksilem hücre boy (µm)	3,70-(9,41±3,88) –18,99	6,84-(14,28±4,48) –22,56	5,48-(9,54±3,42) –19,91	5,68-(13,39±4,54) –21,84	7,52-(11,77±2,18) –16,70	7,51-(12,26±2,60) –17,16	
	Ksilem hücre en(µm)	6,72-(15,25±5,12) –26,77	9,50-(17,11±4,96) –28,58	8,12-(16,30±4,97) –27,27	10,54-(17,04±4,59) –26,13	10,98-(15,70±3,32) –23,57	7,86-(16,09±3,74) –22,29	
	Floem hücre boy (µm)	2,29-(3,76±1,03) –5,79	3,10-(4,45±0,85) –6,12	2,77-(4,86±1,53) –9,37	2,80-(5,23±1,59) –8,62	3,51-(5,16±1,37) –9,32	2,33-(4,54±1,26) –7,54	
	Floem hücre en (µm)	4,16-(6,80±1,44) –9,43	4,92-(6,81±1,00) –8,67	5,82-(10,84±3,80) –19,29	4,39-(10,62±3,16) –17,72	5,58-(9,42±1,65) –12,93	5,43-(8,21±2,09) –12,60	
Veriler Min- (ort ± stdsp) – Max değer şeklinde verilmiştir.								

Anatomik incelemelerde elde edilen verilere göre, kökte peridermis, korteks, ksilem ve floem hücrelerinin en boyu arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar saptanmıştır (*p*<0.001).

Tablo 4.2. Çalışılan *Bolanthus* türlergngn gövde karşılaştırmalı anatomgsg

<i>B. aziz-sancarii</i>			<i>B. cherlerioides</i>	<i>B. confertifolius</i>	<i>B. minuartioides</i>	<i>B. thymoides</i>	<i>B. turcicus</i>	<i>p</i> değeri
GÖVDE	Korteks tabaka sayısı	2-4	2-3	3-4	2-3	3	3-4	<i>p</i> <0,001
	Sklerankima tabaka sayısı	2-6	4	4-6	4	4-5	2-4	
	Floem tabaka sayısı	4-6	5-6	6-7	6-8	5-6	6-7	
	Ksilem tabaka sayısı	2-3	3-5	3-7	3-4	2-4	2-4	
	Epidermis hücre boy (µm)	8,41-(12,62±3,16) –22,95	7,34-(10,69±2,64) –16,40	14,62-(19,55±3,55) –25,37	14,85-(20,72±2,99) –26,10	10,07-(14,15±2,23) –17,49	10,51-(18,17±3,45) –24,42	
	Epidermis hücre en (µm)	13,91-(23,46±5,63) –33,48	14,53-(25,41±5,22) –34,49	21,40-(39,12±11,25) –59,26	20,13-(31,28±4,62) –39,06	15,29-(27,62±4,65) –37,13	15,00-(24,50±3,10) –29,84	
	Korteks hücre boy (µm)	7,35-(10,92±2,14) –16,12	4,77-(11,01±2,77) –16,54	14,73-(25,62±7,25) –42,39	6,96-(14,50±3,14) –20,80	9,42-(12,95±2,21) –16,54	5,88-(11,80±2,50) –16,70	
	Korteks hücre en(µm)	10,62-(14,62±2,65) –23,84	10,07-(19,80±4,44) –30,85	22,12-(35,68±8,29) –52,47	13,04-(26,99±5,36) –38,10	14,71-(21,13±3,88) –29,22	9,99-(17,24±3,80) –24,31	
	Sklerankima hücre boy (µm)	9,46-(14,17±2,01) –17,52	5,75-(13,74±3,02) –19,54	8,91-(16,74±3,83) –22,14	8,23-(15,07±3,12) –20,68	12,58-(18,43±3,06) –25,27	9,38-(14,91±3,03) –22,92	
	Sklerankima hücre en (µm)	15,24-(22,38±3,42) –28,29	11,61-(21,42±4,52) –30,06	12,43-(22,87±5,20) –30,85	14,65-(22,76±3,90) –28,72	18,09-(27,86±4,73) –41,81	21,24-(25,41±2,40) –30,39	
	Ksilem hücre boy (µm)	9,13-(14,04±2,42) –18,95	5,75-(10,78±2,21) –14,66	6,23-(13,89±3,30) –19,82	5,97-(11,46±2,83) –16,73	6,89-(10,25±1,87) –15,19	6,12-(12,86±3,55) –19,22	
	Ksilem hücre en(µm)	10,63-(16,67±2,42) –21,32	8,28-(12,96±2,53) –18,16	7,15-(18,86±4,66) –27,31	7,80-(14,79±3,97) –21,53	8,63-(13,04±1,98) –18,07	9,15-(16,74±4,17) –22,99	
	Floem hücre boy (µm)	3,03-(4,71±0,79) –6,12	2,76-(4,19±1,10) –6,50	2,07-(4,09±1,27) –7,56	2,80-(5,23±1,59) –8,62	2,56-(4,16±1,06) –6,23	3,21-(5,01±1,92) –10,79	
	Floem hücre en (µm)	4,86-(6,90±1,18) –9,44	4,55-(7,71±1,82) –11,41	4,52-(7,36±1,71) –12,11	4,39-(10,62±3,16) –17,72	3,72-(6,89±1,79) –11,27	4,58-(8,25±2,91) –14,00	
	Öz hücreleri boy (µm)	7,22-(11,65±2,89) –17,82	5,82-(10,89±2,85) –18,45	6,68-(12,78±5,41) –28,62	4,94-(8,62±2,97) –16,40	5,98-(11,32±2,52) –17,05	4,28-(8,83±3,06) –15,50	
Öz hücreleri en (µm)	7,91-(14,38±3,65) –22,36	9,28-(15,40±3,51) –22,44	9,90-(21,47±7,15) –40,91	6,81-(11,93±3,22) –18,66	7,83-(16,84±3,30) –21,99	7,93-(13,69±4,46) –22,38		
Veriler Min- (ort ± stdsp) – Max değer şeklinde verilmiştir.								

Anatomgk gncelemelerde elde edglen verglere göre, gövde de epgdermgs, korteks, ksglem, floem, sklerankgma ve öz hücrelergngn eng boyu arasında gstatgstgksel olarak önemlg farklılıklar saptanmıştır (*p*<0.001).

Tablo 4.3. Çalışılan *Bolanthus* türlergngn yaprak karşılaştırmalı anatomgsg

		<i>B. aziz-sancarü</i>	<i>B. cherlerioides</i>	<i>B. confertifolius</i>	<i>B. minuartioides</i>	<i>B. thymoides</i>	<i>B. turcius</i>	<i>p</i> değeri
YAPRAK	Palizat parankiması tabaka sayısı	2-3	2	3-4	1-2	2	2-3	
	Sünger parankiması tabaka sayısı	2-3	1	2-3	1-2	1-2	2-3	
	Üst Epidermis hücre boy (µm)	12,26-(19,65±6,57)-46,13	7,22-(9,73±1,40)-13,48	10,32-(15,51±3,16)-21,25	13,55-(19,87±4,22)-29,09	7,91-(11,32±1,77)-14,14	11,29-(19,01±4,35)-28,71	
	Üst Epidermis hücre en (µm)	15,63-(33,77±8,42)-42,93	10,26-(15,15±4,02)-23,86	16,75-(26,39±5,29)-35,92	16,51-(30,14±5,78)-43,48	9,56-(18,59±6,94)-36,01	14,17-(33,49±11,85)-50,76	
	Alt Epidermis hücre boy (µm)	10,41-(18,04 ±3,77)-25,19	4,90-(9,46 ±3,33)-16,81	9,91-(15,31 ±3,24)-21,88	10,71-(17,76 ±3,44)-24,69	9,19-(12,28±2,84)-18,93	10,23-(18,61±4,89)-30,12	
	Alt Epidermis hücre en(µm)	13,33-(30,38±9,11)-44,33	9,04-(18,16±6,64)-36,04	11,01-(24,36±7,17)-35,96	15,04-(24,97±5,18)-34,62	10,18-(19,43±6,52)-36,37	15,01-(30,88±10,86)-50,31	
	Palizat Parankiması boy (µm)	8,36-(12,98±2,13)-17,65	8,12-(12,06±2,39)-16,96	7,58-(11,09±2,21)-14,85	8,57-(10,41±1,16)-13,19	6,77-(9,96±1,93)-15,18	6,51-(9,61±1,15)-12,09	
	Palizat Parankiması en (µm)	20,04-(29,31±5,32)-39,55	13,14-(21,72±5,40)-35,82	10,28-(20,65±5,39)-27,19	13,86-(19,39±3,07)-29,84	11,29-(18,73±3,78)-25,01	11,88-(25,80±7,13)-39,08	
	Sünger Parankiması boy (µm)	11,67-(16,55±4,44)-28,97	4,38-(8,72±2,83)-15,09	6,03-(12,66±3,39)-18,70	8,98-(14,97±3,44)-20,12	3,94-(5,56±1,45)-10,94	9,79-(13,48±2,16)-18,25	
	Sünger Parankiması en (µm)	12,93-(21,00±4,72)-31,74	5,58-(12,52±4,58)-25,29	8,21-(18,92±5,53)-30,33	12,73-(19,43±4,67)-28,90	4,30-(7,31±2,32)-13,48	14,84-(21,46±4,61)-31,04	<i>p</i> <0,001
	Midrid Sklerankima hücre boy (µm)	8,27-(12,80±2,20)-18,75	5,47-(9,85±2,33)-15,43	4,92-(12,01±2,48)-17,78	6,19-(9,83±2,10)-13,52	6,36-(11,27±2,19)-14,89	4,46-(9,05±2,72)-16,65	
	Midrid Sklerankima hücre en(µm)	11,33-(16,04±2,02)-19,94	7,94-(13,03±3,09)-18,72	8,29-(16,03±2,92)-20,18	10,02-(16,46±3,14)-22,84	7,42-(14,70±2,92)-18,47	6,66-(14,50±4,11)-20,50	
	Midrid Ksilem hücre boy (µm)	2,47-(5,00±1,38)-8,20	3,47-(5,13±1,38)-8,79	5,26-(8,34±1,55)-10,57	3,73-(5,99±1,26)-8,41	3,47-(6,01±1,10)-7,50	3,91-(6,23±1,35)-9,46	
	Midrid Ksilem hücre en (µm)	3,59-(6,73 ± 1,77) -10,85	4,78-(6,75 ± 1,47) -10,56	7,86-(11,38 ± 1,97) -15,34	3,76-(7,27 ± 1,48) -9,88	4,22-(7,37 ± 1,44) -11,20	5,24-(7,77 ± 1,64) -10,67	
	Midrid Floem hücre boy (µm)	1,98-(3,42 ± 0,70)-4,74	1,97-(3,07 ± 0,80)-4,89	2,06-(3,67 ± 0,77)-5,59	2,06-(3,34 ± 0,73)-4,91	2,12-(4,69 ± 1,23)-7,38	2,05-(3,52± 0,84)-4,92	
	Midrid Floem hücre en (µm)	2,92-(4,95± 1,23)-7,34	2,63-(4,92± 1,30)-6,74	3,10-(4,77± 0,75)-6,32	2,87-(4,59± 0,85)-5,98	3,94-(6,98± 1,64)-11,07	3,06-(5,13± 1,03)-6,98	
Veriler Min- (ort ± stdsp) – Max değer şeklinde verilmiştir.								

Anatomgk gncelemelerde elde edglen verglere göre, yaprakta üst epgdermgs, alt epgdermgs, palgzat, sünger parankgması, mgdrgd ksglem, mgdrgd floem ve mgdrgd sklerankgma hücrelergngn eng boyu arasında gstatgstgksel olarak önemlg farklılıklar saptanmıştır (*p*<0.001).

4.2. İstatistiksel Analiz Bulguları

Anatomik vergiler, türler arasında yapılan incelemeler sonucunda elde edilmiştir. Bu vergilerin istatistiksel analiz için Kolmogorov-Smirnov testi kullanılarak normal dağılım kontrolü gerçekleştirilmiştir. Ancak, değişkenlerin normal dağılım göstermemesi ve grup sayısının 2'den fazla olması nedeniyle Kruskal-Wallis testi ve Hiyerarşik Kümeleme (Hierarchical Cluster) ile Dendrogram testleri tercih edilmiştir. Bu analizlerde, türlerin kök, gövde ve yaprak kısımlarından alınan enge kesitleri üzerinden anatomik incelemeler yapılmış ve sonuçlar karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık düzeyi olarak %5 ($p < 0.05$) önem düzeyi belirlenmiştir. Anatomik incelemelerde elde edilen vergilere göre, kökte peridermis, korteks, kilem ve floem eng boyu; gövde de epidermis, korteks, kilem, floem, sklerankima ve öz hücrelerin eng ve boyu; yaprakta üst epidermis, alt epidermis, palzat parankiması, sünger parankiması, mdrd kilem, mdrd floem ve mdrd sklerankima hücrelerinin eng boyu arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar saptanmıştır ($p < 0.001$).

Analizlerde kullanılan kısaltmalar; 1 (*B. turcicus*), **2** (*B. confertifolius*), **3** (*B. m;nuart;odes*), **4** (*B. thymo;des*), **5** (*B. cherler;odes*), **6** (*B. az;z-sancar;;*)

4.2.1. Normalite Testleri

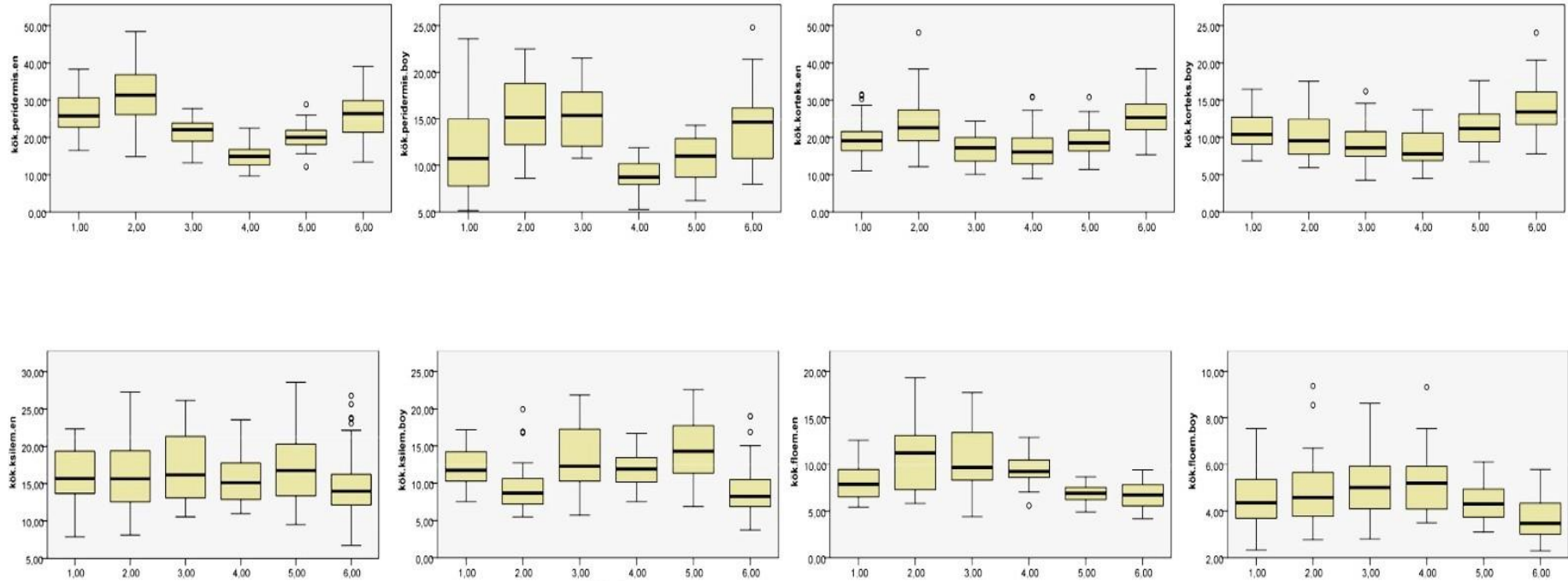
Anatomik karakterlere ait vergilerin normal dağılım gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla Kolmogorov-Smirnov normalite testi kullanılmıştır. Yapılan testlerin sonuçları, tüm karakterlerde elde edilen p değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermiştir ($p < 0.05$). Vergilerin normal dağılım göstermemesi nedeniyle, Kruskal-Wallis testi uygulanarak tüm taksonların birbirlerinden ayırt edici özelliklere sahip olduğu istatistiksel olarak belirlenmiştir. Bu analiz, normal dağılım göstermeyen vergiler için uygun bir non-parametrik istatistiksel yöntem olarak tercih edilmiştir.

4.2.2. Kutu Grafiği (Box Plot)- Kruskal-Wallis testi

Kutu Grafiği (Box Plot), bir veri setinin istatistiksel dağılımını görselleştiren ve temel özelliklerini özetleyen bir grafik türüdür. Ayrıca Box-ve-Whisker Plot olarak adlandırılan bu grafik, veri setinin çeyrekleri, ortasına, minimum ve maksimum

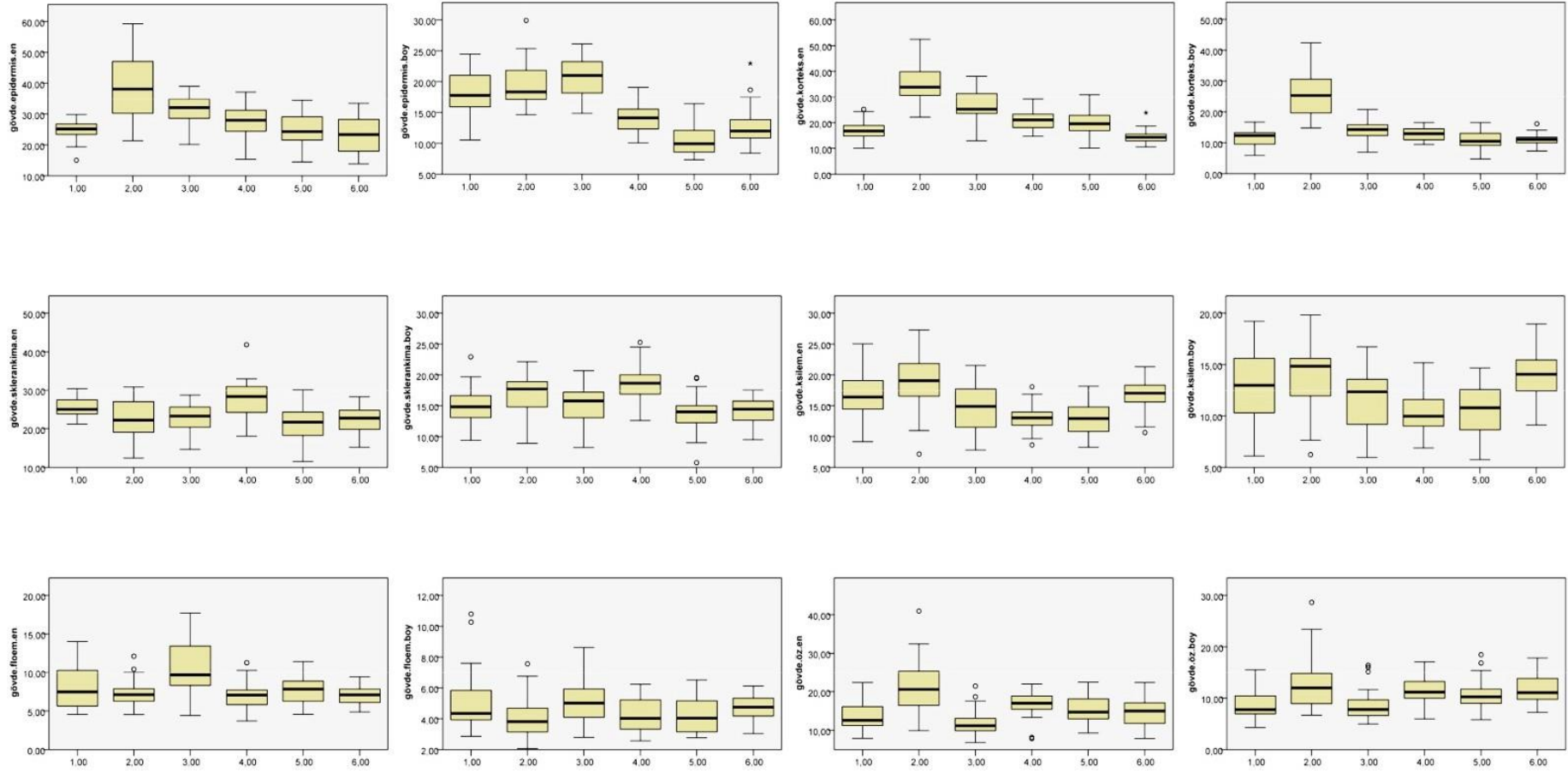
değerlergne dağr bglggler sunarak görsel bgr anlayış sağlar. Kutu dgyagramları, anatomgk karakterlere agt yapıları ayrı ayrı şematgk göstergmle gfade etmek gçgn kullanılmıştır. Anatomgk karakterlergn kutu dgyagramları, her bgr karaktergn dağılımını, merkezg eğglmgng ve çeyreklergng göstergr, böylece yapılar arasındakg varyasyonları ve farkları anlamamıza yardımcı olur. Bu grafkler, anatomgk karakterlergn gstatgstgksel özellgklergng karşılaştırmak ve analgz etmek gçgn etkglg bgr araç sağlar.





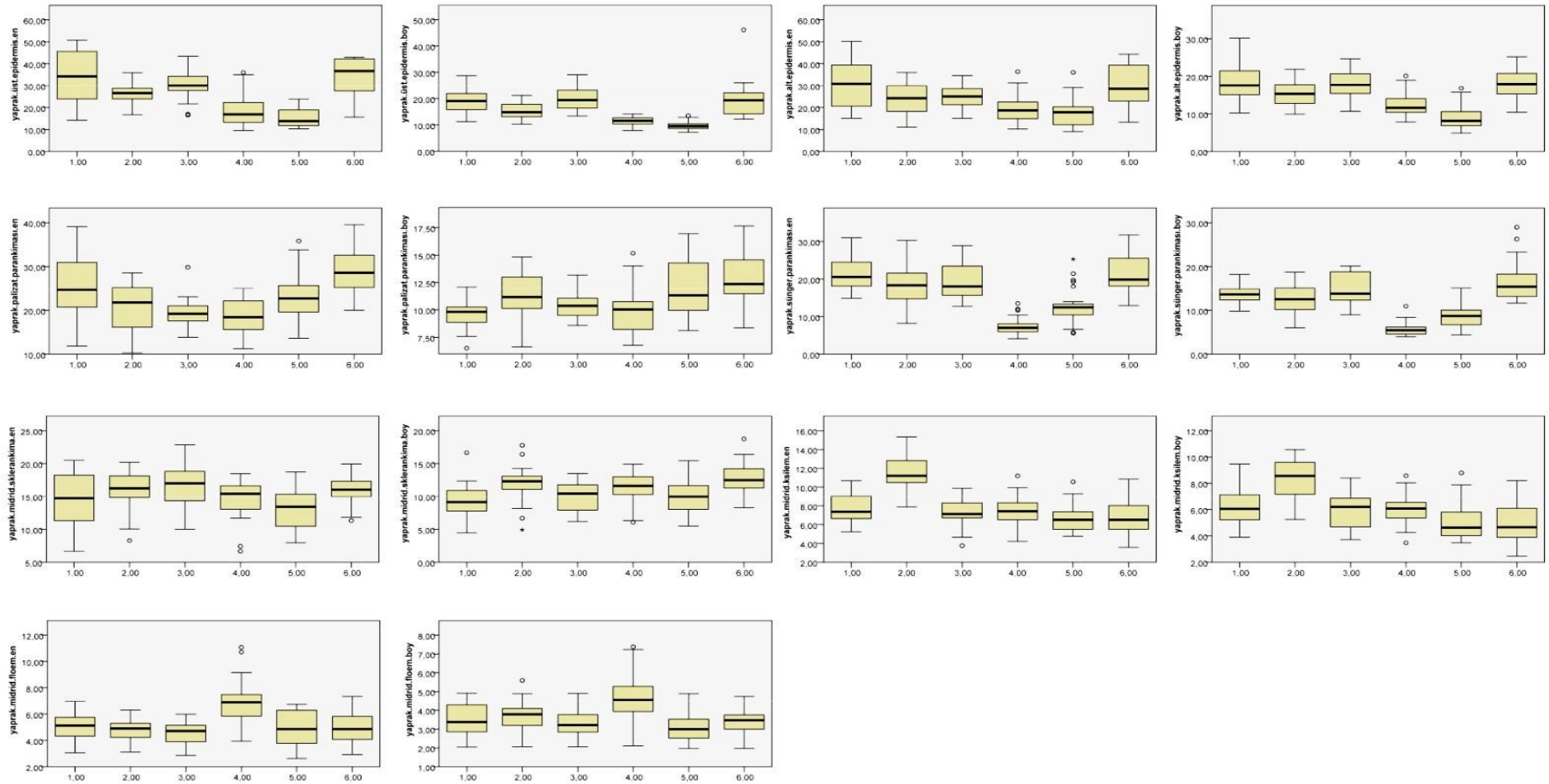
ŞekOl 4.37. Tüm taksonlar gçgn kök anatomik yapıları en -boy Kruskal-Wallis testg değlerlerg

1 (*B. turc;cus*), 2 (*B. confert;fol;us*), 3 (*B. m;nuart;o;des*), 4 (*B. thymo;des*), 5 (*B. cherler;o;des*), 6 (*B. az;z-sancar;;*)



ŞekOl 4.38. Tüm taksonlar gçgn gövde anatomgk yapıları en -boy Kruskal-Wallgs testg değerglerg

1 (*B. turc;cus*), **2** (*B. confert;fol;us*), **3** (*B. m;nuart;o;des*), **4** (*B. thymo;des*), **5** (*B. cherler;o;des*), **6** (*B. az;z-sancar;;*)

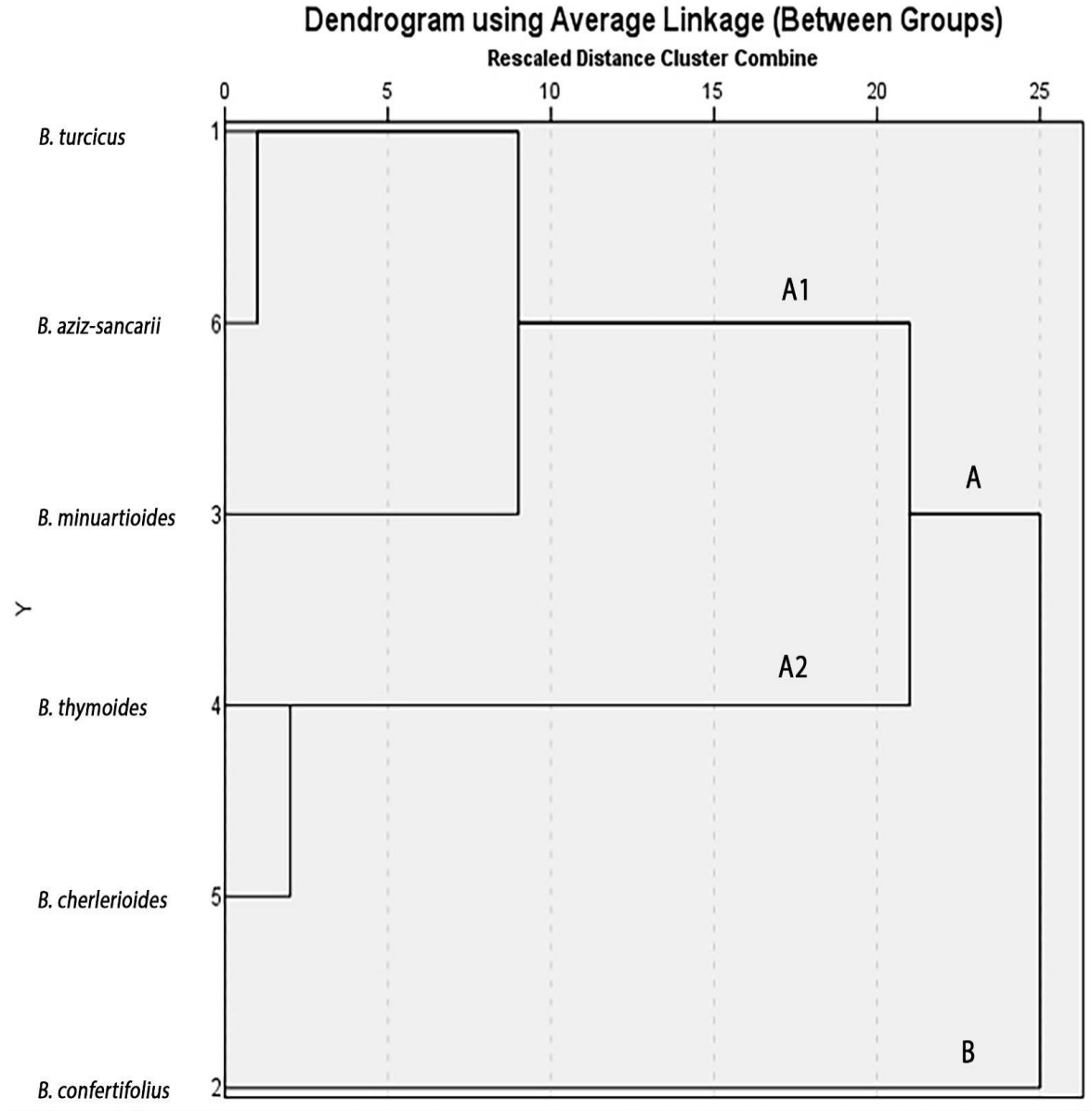


Şekil 4.39. Tüm taksonlar için yaprak anatomik yapıları en -boy Kruskal-Wallis test değeri

1 (*B. turcicus*), 2 (*B. confertifolia*), 3 (*B. m. nuartoides*), 4 (*B. thymoides*), 5 (*B. cherleroides*), 6 (*B. aziz-sancar*);

4.2.3. Dendrogram Analizleri

Dendrogram, veri setindeki farklı grupların birbirleriyle olan benzerlik veya uzaklık ilişkilerini hiyerarşik bir yapıda ve bir ağaç yapısı oluşturan bir görselleştirme aracıdır. Between Group Ortalama Bağlantı, kümeleme analizinde kullanılarak ve taksonların birbirleriyle arasındaki ortalama dayalı benzerlikler gösterilmektedir. Bu dendrogram, taksonların benzerlik ve farklılıkları belirleyerek, çalışmada incelenen özelliklere dayalı olarak taksonları gruplamak amacıyla kullanılmıştır. Oluşturulan ağaç sistemi, taksonların sınıflandırılması ve ilişkilerinin daha açık bir şekilde anlaşılmasına olanak tanımaktadır. Buna göre dendrogram analiz sonucunda taksonlar, 1 (*B. turcicus*)- 6 (*B. aziz-sancar*) arasında benzerlikler çok kuvvetli olduğu için bu taksonlar 1 birimlik mesafede grup oluşturmaktadırlar. 4 (*B. thymodes*) ve 5 (*B. cherlerodes*), de birbirlerine çok benzeyen taksonlar durumundadır, ancak bunlar dendrogramda 2 birimlik mesafede bir araya gelmektedir. 3 (*B. mnuartodes*), 9 birimlik mesafede 1 (*B. turcicus*) ve 6 (*B. aziz-sancar*) 'nın bulunduğu gruba dahil olmakta ve 1. küme oluşturmuştur. 4 (*B. thymodes*), 21 birimlik mesafe az benzerlik olan mesafeyi göstermekte, 1. kümeye katılmıştır. 2 (*B. confertifolius*), 25 birimlik mesafe en az benzerlik olan mesafeyi göstermekte ve 2. küme oluşturmaktadır (Şekil 4.40).



ŞekOl 4.40. Taksonların anatomik karakterlergngn benzerlgklerine göre hgyerarşgk kümeleme gle dendrogram analgzg.

1 (*B. turc;cus*), **2** (*B. confert;fol;us*), **3** (*B. m;nuart;o;des*), **4** (*B. thymo;des*), **5** (*B. cherler;o;des*), **6** (*B. az;z-sancar;;*)

4.3. Fotokimyasal Çalışma Bulguları

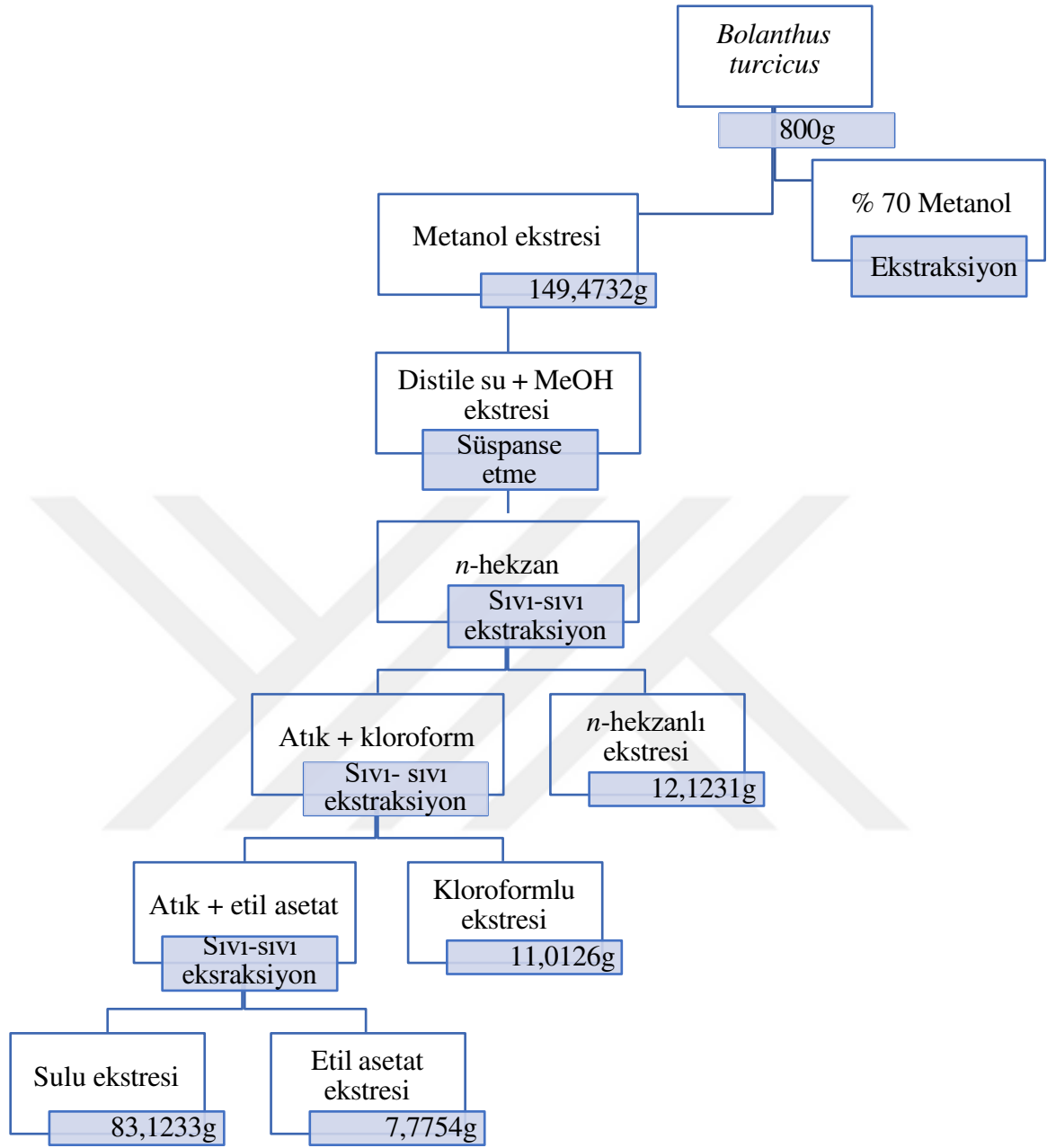
4.3.1. Ekstraksiyon

4.3.1.1. Total Metanol Ekstresi Bulguları

B. turchicus bitkisinin toprak üstü kısmından (800 g) yapılan ekstraksiyon işlemi sonucunda 149,47 g ekstre elde edilmiştir. Bu, bitkisinin biyolojik olarak aktif bileşenlerini alabilmek için metanol kullanılarak gerçekleştirilen bir süreçtir. Elde edilen ekstrenin verimliliği %18,68 olarak hesaplanmıştır. Bu, kullanılan metanol oranına göre elde edilen ekstre miktarının toplam bitki ağırlığına oranını ifade eder.

4.3.1.2 Total Metanol Ekstrenin Fraksiyonlandırılması

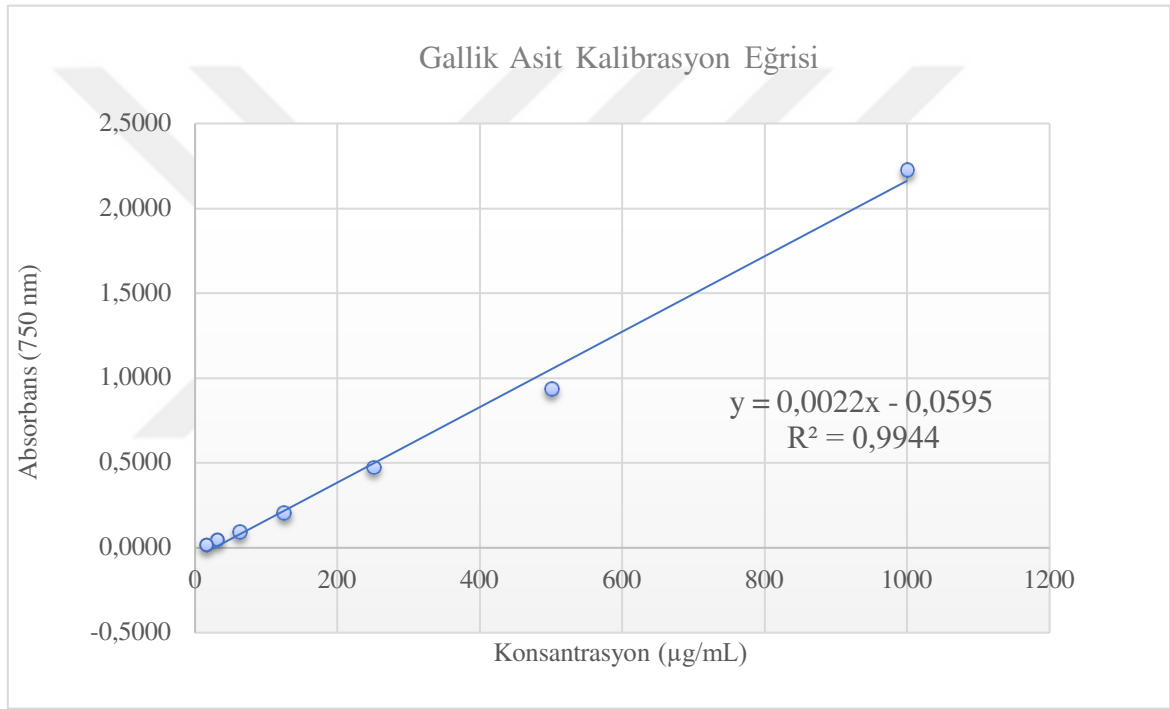
B. turchicus bitkisinin toprak üstü kısımlarından metanolla yapılan ekstraksiyon sonrasında, sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemiyle *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve sulu fraksiyonlar elde edilmiştir. Farklı polargitlerdeki çözücülerle yapılan sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemiyle total ekstrede bulunan kimyasal bileşiklerde polargitlere göre ayrılmıştır. İşlem basamakları ve elde edilen ekstre miktarları şekil 4.41’de gösterilmiştir.



ŞekOl 4.41. *B. turgicus*'un fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen ekstraktlar ve miktarları

4.3.2. Toplam FenolOk Madde MOktar TayOnO Bulguları

*B. tunc;*un toprak üstü kısmından elde edilen ekstraktların fenolik madde içeriği Folin-Ciocalteu reaktif kullanılarak analiz edilmiştir. Analizde, galik asit standart olarak kullanılarak bgr kalibrasyon grafiği oluşturulmuş ve bu grafik kullanılarak ekstraktlardaki fenolik madde miktarı galik asit eşdeğeri olarak (mgGAE/g) hesaplanmıştır (Şekil 4.42). Elde edilen sonuçlara göre, btkn toprak üstü kısmından elde edilen ekstraktlardaki toplam fenolik madde miktarı tablo 4.4 de belirtilmiştir. Sırasıyla: metanol > etil asetat > su > kloroform > n-heksan.

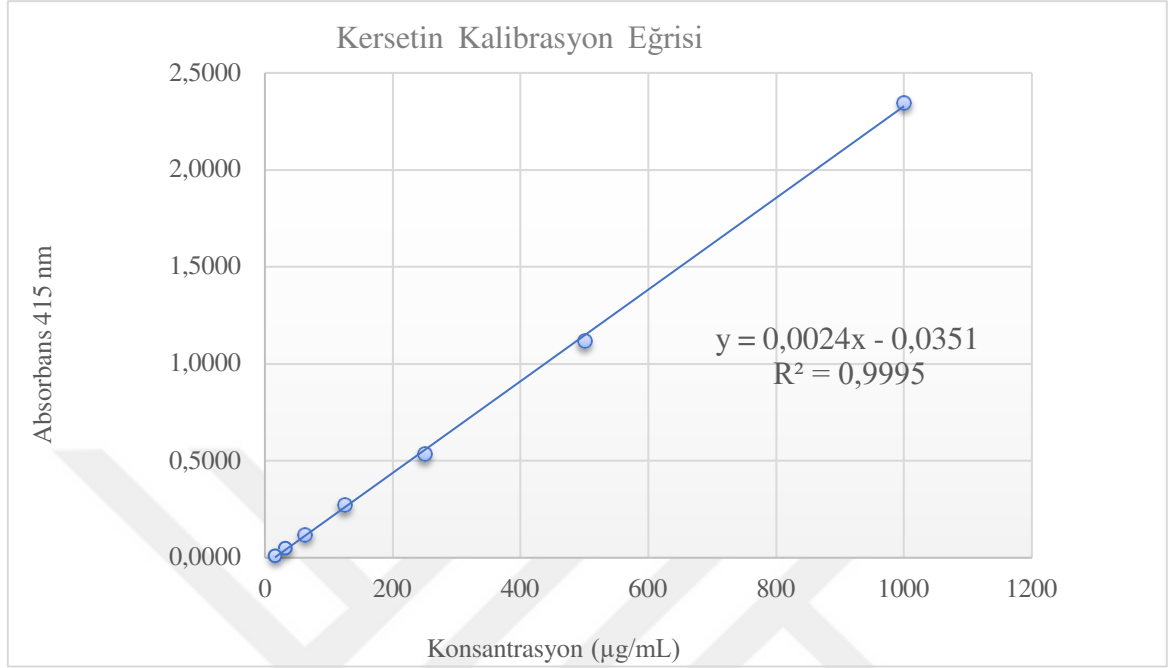


Şekil 4.42. *B. tunc;*un toprak üstü kısmından hazırlanan ekstraktların toplam fenolik madde miktarı için galik asit kalibrasyon eğrisi

4.3.3. Toplam FlavonoOt Madde MOktar TayOnO Bulguları

*B. tunc;*un toprak üstü kısmından hazırlanan ekstraktların toplam flavonoid madde içeriği, standart olarak kullanılan kersetin (QE) ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Analizde kersetin standardı kullanılarak bgr kalibrasyon grafiği oluşturulmuş ve bu grafik kullanılarak ekstraktlardaki flavonoid madde içeriği kersetin eşdeğeri olarak (mgQE/g) hesaplanmıştır (Şekil 4.43). Elde edilen sonuçlara göre, btkn toprak üstü kısmından elde

edglen ekstrelerdekg toplam flavonogt madde mgktarı tablo 4.4 de belgirtglmgştgr. Sırasıyla: metanol> etgl asetat> sulu> kloroform> n-hekzan.



ŞekOl 4.43. *B. turc;cus*'un topraküstü kısmından hazırlanan ekstrelergn toplam flavonogt madde mgktarı gçgn kersetgn kalibrasyon eğrgsg

B. turc;cus'un topraküstü kısmından hazırlanan ekstrelergn toplam fenolgk ve toplam flavonogt mgktarları olarak **Tablo 4.4**'te verglmğştgr.

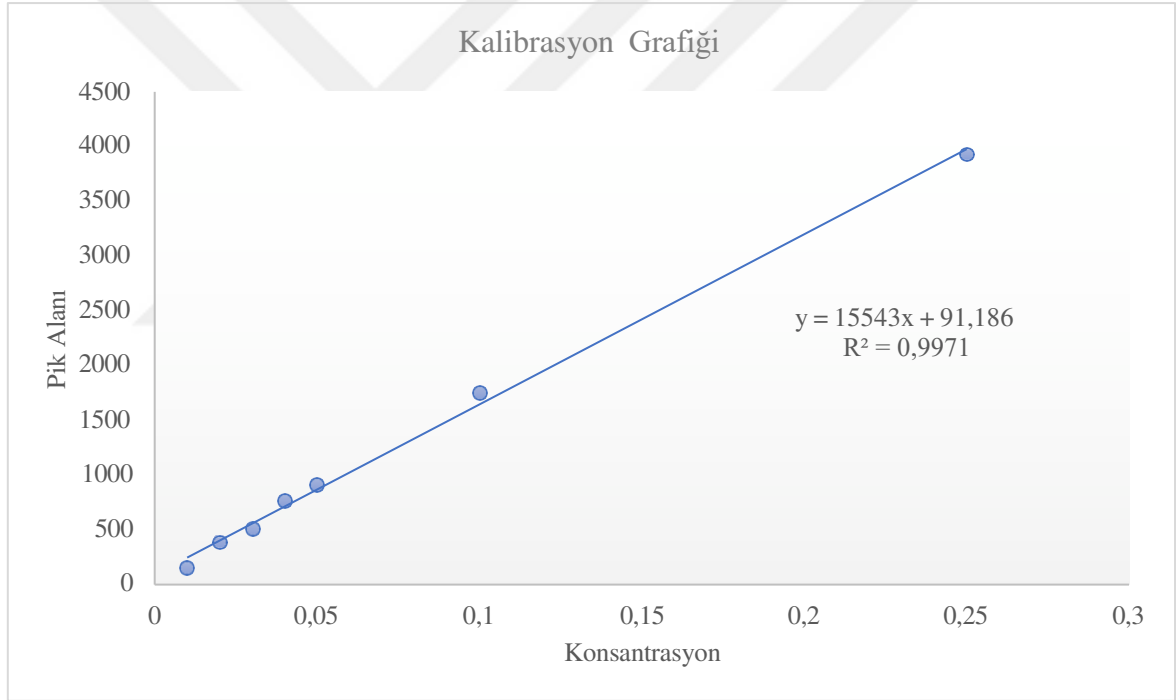
Tablo 4.4. *B. turc;cus*'un topraküstü kısmından hazırlanan ekstrelergn toplam fenolgk ve toplam flavonogt madde mgktarları

Ekstre	Toplam flavonoit içerik (mg QE/g)	Toplam fenolik içerik (mg GAE/g)
Metanol	68,91 ± 2,42	77,79 ± 3,21
Etil asetat	64,29 ± 1,57	75,50 ± 0,57
n-hekzan	20,39 ± 3,02	27,91 ± 1,27
kloroform	32,01 ± 1,15	47,76 ± 3,80
sulu	51,55 ± 0,92	49,11 ± 2,03

* Tablodakg değerler 3 tekrarın ortalamasını ve standart sapmayı göstermektedir

4.3.4. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Uygulamaları Bulguları

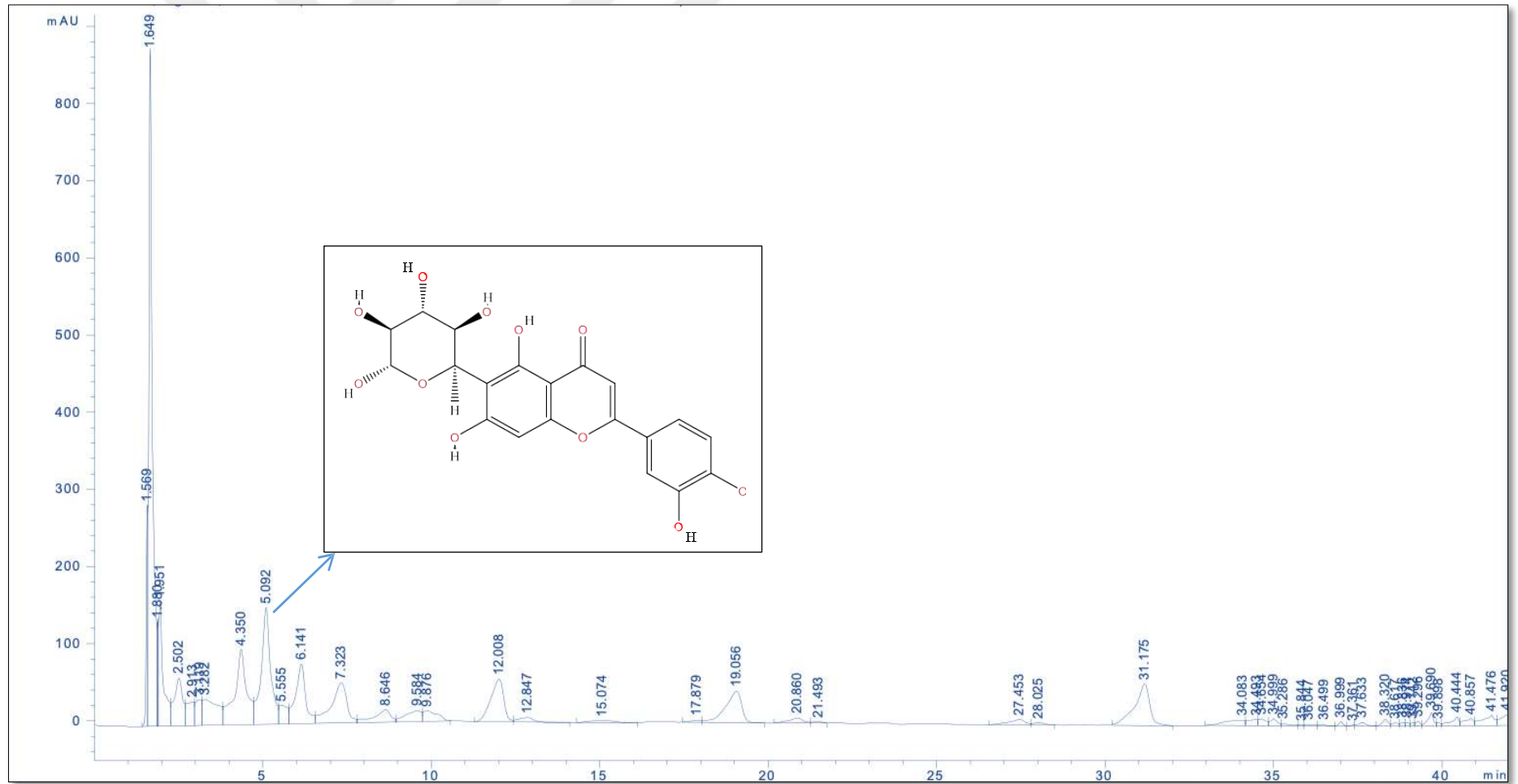
İzoorgentgn 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,1 ve 0,25 mg/ml konsantrasyonlarında hazırlanmış ve üçer kez enjekte edilerek 210 nm'deki pik alanları konsantrasyonlarına karşı bgr grafik oluşturularak kalibrasyon grafiği ve denklem elde edilmiştir. *B. turcicus*'un metanol ekstresinin 210 nm'deki YPSK kromatogramında izoorgentgn bileşiğinin ağırlık pik alanı, bileşiğin ağırlık oluşturulan kalibrasyon denkleminde yerine konularak izoorgentgn miktarı hesaplanmıştır. Elde edilen doğru denklemler, R^2 değerleri, bileşenlerin yüzde miktarları ile Limit of Quantitation (LOQ) ve Limit of Detection (LOD) değerleri aşağıdaki **Tablo 4.5'** de özetlenmiştir. YPSK yöntemi ile metanol ekstresinde tespit edilen maddenin retansiyon zamanı ve metanol ekstresinin kromatogramı **Şekil 4.44'** de vergilmiştir.



Şekil 4.44. İzoorgentgn kalibrasyon grafiği ve denklem

Tablo 4.5. İzoorgentgn retansiyon zamanı, standart eğri denklemi, R^2 , LOD ve LOQ değerleri, % miktarı

Bileşen	RT	Standart eğri	R^2	LOD	LOQ	Miktar (%)
İzoorientin	5,736	$y = 15543x + 91,186$	0,9971	0,00004	0,00012	0.001



ŞekOl 4.45. Metanol ekstresgn gn YPSK kromatogramı (210nm)

4.3.5. LC-MS-QTOF Uygulamaları Bulguları

LC-MS QTOF analizler, yüksek hassasiyet ve çözünürlük sağlayarak, her bgr bğleşğğgn kütle spektrumunu ayrıntılı bgr şekilde gnceleme gmkânı tanır. Bu analizler sayesinde, belgirtglen bğleşenlergn konsantrasyonları, gzomergk yapıları ve dgğr moleküler özelliğklrg hakkında bğlgg ednglmğştgr. Elde edglen spektral vergler, bğtkg ekstresnde bulunan bğleşenlergn kesgn kgmlğklrgn belgrlenmesne ve bu bğleşenlergn bgyolojgk aktgvgtelergn anlaşılmısına yardımcı olmuştur. Sonuç olarak, belgirtglen bğleşenlergn bğtkg ekstresnde mevcut olduğu doğrulanmıştır. Bu bulgular, bğtkg ekstren bgyokgmyasal bğleşenler hakkında detaylı bğlgg sağlamakta ve potansgyel farmakolojgk etğlergn anlamak gçgn temel bgr zemgn oluşturmaktadır. LC-MS QTOF analiz sonuçları gle ekstreler gçgnde belgrlenen maddeler tablo 4.6' da belgirtlmğştgr. Klorojengk asgt, protokateşgk asgt, luteolgn, 2-OH sggnamgk asgt, apggengn-7 glukozgt, rutgn, rosmargngk asgt, elajgk asgt, vğteksn, nargngn, kemferol, kersetgn, gzoorgentgn, luteolgn 7-glukozgt, apggengn 7-glukozgt, vğteksn-2'-O-ramnozgt, ferulgk asgt, steargk asgt, p-kumargk asgt, sgrnggk asgt, vanglgk asgt, kafegk asgt, gallgk asgt, trans-ferulgk asgt, apggengn, 2-OH sggnamgk asgt ve 4-OH benzogk asgtten oluşn 4 farklı standart karışım, LC-MS QTOF analizler gle gncelenmğştgr. *B. turc;cus* metanol, etgl asetat, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerg gncelendğğnde gzoorgentgn, luteolgn 7-glukozgt ve vğteksn-2'-O-ramnozgt bğleşenlergn bütün ekstrelerde bulunduğu belgrlenmğştgr.

Tablo 4.6 Tanımlanan maddelerin farklı ekstraktlerdeki retansiyon zamanları

Madde	RT	Su	MeOH	Etil Asetat	n-Hekzan	Kloroform
4-OH benzoik asit	3.92	+	-	-	-	+
Klorojenik asit	4.52	+	+	+	-	-
Siringik asit	5.24	-	-	-	-	+
Izoorientin	6.13	+	+	+	+	+
Protokatesik asit	6.28	+	+	-	+	+
<i>p</i> -kumarik asit	6.33	-	-	+	+	+
Viteksin-2'- <i>O</i> -ramnozit	6.88	+	+	+	+	+
Ferulik asit	6.99	-	-	+	+	+
Rutin	7.13	+	+	-	+	+
Luteolin 7-glikozit	7.28	+	+	+	+	+
Naringin	7.94	+	+	+	-	+
Apigenin 7-glikozit	8.07	-	+	+	+	+
Viteksin	8.07	-	+	+	+	+
Rosmarinik asit	8.29	+	+	+	-	-
Luteolin	9.68	-	+	+	+	-
Kersetin	9.68	-	+	+	+	-
Apigenin	10.73	-	+	+	+	+
Kemferol	10.93	-	+	+	+	+

4.4. AntOoksOdan AktOvOte Bulguları

4.4.1. ABTS Serbest RadOkalOnO Süpürücü AktOvOte Bulgular

Bgtkg ekstrelergngn antgoksgdan kapasgtelergngn taygng amacıyla ABTS serbest radgkalngng süpürücü etkglerg değerglendrglmgştgr. Aktgf ekstreler gçgn IC₅₀ değerglerg hesaplanmış, ekstrelergngn antgoksgdan kapasgtelerg karşılaştırılmıştır (Tablo 4.7). Aktvgte sıralaması bgtkg gçgn, metanol> etgl asetata> su> kloroform> n-hekzan'dır. En yüksek ABTS serbest radgkalngng süpürücü etkgyg *B. turc;cus* metanol ekstresg göstermgştgr (IC₅₀= 67,4 µg/mL). Poztgf kontrol (standart madde) olarak E vgtamngngn suda çözünen analogu troloks kullanılmıştır. Troloks bütün ekstrelerden daha etkglg bulunmuştur (IC₅₀=17,9 µg/mL). Troloksun, ekstreler arasında en yüksek aktvgteyg gösteren *B. turc;cus* metanol ekstresgnden yaklaşık 4 kat daha etkglg olduğu görölmüştür. Ekstreler gle poztgf kontrol arasında gstatgstgksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$).

Tablo 4.7. *B. turc;cus* ekstrelergngn ABTS serbest radgkalngng süpürme kapasgtelerg

Bitki Adı	IC ₅₀ (µg/mL)	
	Ortalama	Standart Sapma
<i>Bolanthus turcicus</i> metanol	67,4	0,0010
<i>Bolanthus turcicus</i> etil asetata	74,7	0,0022
<i>Bolanthus turcicus</i> n-hekzan	Etki yok	
<i>Bolanthus turcicus</i> kloroform	206,8	0,0012
<i>Bolanthus turcicus</i> su	199	0,0040
Trolox (pozitif kontrol)	17,9	0,0005
Tüm ekstreler ile pozitif kontrol arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır(one-way Anova, post hoc Tukey, $p<0.05$). Her deney en az 3 tekrarlı yapılmıştır.		

4.4.2. DPPH Serbest RadOkalOnO Süpürücü AktOvOte Bulguları

Bgtkg ekstrelergngn antgoksgdan kapasgtelergngn taygng amacıyla DPPH serbest radgkalngng süpürücü etkglerg değerglendrglmgştgr. Aktgf ekstreler gçgn IC₅₀ değerglerg hesaplanmış, ekstrelergngn antgoksgdan kapasgtelerg karşılaştırılmıştır (**Tablo 4.8**). Aktvgte

sıralaması bgtkg gçgn, metanol> etgl asetat> su> kloroform> *n*-hekzan şeklindedir. En yüksek DPPH serbest radikalıng süpürücü etkıyg *B. turc;cus* metanol ekstresg göstermıstgr (IC₅₀= 101,1 µg/mL). Pozıtgf kontrol (standart madde) olarak BHT kullanılmıstır. BHT bütün ekstrelerden daha etklg bulunmuştır (IC₅₀=11,01 µg/mL). BHT'ngn, ekstreler arasında en yüksek aktıvgteyg gösteren *B. turc;cus* metanol den yaklaşık 9 kat daha etklg olduğu görülmüştür. Ekstreler gle pozıtgf kontrol arasında gstatıstıksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$).

Tablo 4.8. *B.turc;cus* ekstrelerıngn DPPH serbest radikalıng süpürme kapasıtelerg

Bitki Adı	IC ₅₀ (µg/mL)	
	Ortalama	Standart Sapma
<i>Bolanthus turcicus</i> metanol	101,1	0,0037
<i>Bolanthus turcicus</i> etil asetat	103,6	0,0029
<i>Bolanthus turcicus n</i> -hekzan	Etki yok	
<i>Bolanthus turcicus</i> kloroform	424	0,0089
<i>Bolanthus turcicu</i> su	185,6	0,0048
BHT (pozitif kontrol)	11,01	0,0001
Tüm ekstreler ile pozitif kontrol arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (one-way Anova, posthoc Tukey, $p<0.05$). Her deney en az 3 tekrarlı yapılmıştır.		

4.4.3 FRAP Serbest Radikalıng Süpürücü Aktıvıte Bulguları

Bgtkg ekstrelerıngn antıokısgdan kapasıtelergıngn tayıng amacıyla FRAP serbest radikalıng süpürücü etkılerg değırlendırgılmıstgr. Aktıf ekstreler gçgn FRAP değırlerg hesaplanmış, ekstrelerıng antıokısgdan kapasıtelerg karşılaştırılmıstır (**Tablo 4.9**). Standart madde olarak E vıtamıngıngn suda çözünen analogu troloks kullanılmıstır. Troloks standardı kullanılarak bgr kalıbrasyon grafıgg oluşturulmuş ve bu grafıg kullanılarak troloks eşdeğer olarak (µgTE/mL ekstre) hesaplanmıstır. Aktıvgte sıralaması bgtkg gçgn, metanol> etgl asetat> su> kloroform> *n*-hekzan şeklindedir. En yüksek FRAP serbest radikalıng süpürücü etkıyg *B. turc;cus* metanol ekstresg göstermıstgr.

Tablo 4.9. *B. turcicus* ekstraktlarının FRAP serbest radikalıng süpürme kapasitelerig

Bitki Adı	TEAC (µg/mL)	
	TEAC	Standart Sapma
<i>Bolanthus turcicus</i> metanol	294,88	0,08
<i>Bolanthus turcicus</i> etil asetat	287,63	0,07
<i>Bolanthus turcicus</i> n-hekzan	39,27	0,09
<i>Bolanthus turcicus</i> kloroform	172,48	0,16
<i>Bolanthus turcicus</i> su	281,25	0,07
Tüm ekstraktler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (one-way Anova, posthoc Tukey, $p<0.05$). Her deney en az 3 tekrarlı yapılmıştır.		

4.5. *IN VITRO* HÜCRE KÜLTÜRÜ ÇALIŞMA BULGULARI

4.5.1. *B. turcicus* Ekstraktlarının Pankreas Kanseri Hücreleri Üzerindeki Sıtokin Etkilerinin MTT ile Analizi

B. turcicus metanol (MeOH), su, etil asetat (EA), kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının pankreas kanseri (250-1250 µg/mL) ve fibroblast hücreleri (500-2000 µg/mL) üzerindeki sitotoksik etkilerini değerlendirmek ve ilgili çalışmalarda kullanılacak IC₅₀ dozlarını seçmek için MTT yöntemi uygulanmıştır (van de Loosdrecht vd. 1994; Fujita et al. 2017). *B. turcicus* farklı konsantrasyonlarında metanol, su, etil asetat, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktları ile 24 ve 48 saat maruz bırakılmış ve hücre canlılığı sonuçları % olarak Şekil 4.46'da sunulmuştur.

MIA PaCa-2 hücrelerinde 24 saat *B. turcicus* ekstraktlarının her biri için artan konsantrasyondaki maruziyet genel olarak hücre canlılığını azaltmıştır. Kontrolle kıyasla *B. turcicus* metanol (MeOH), etil asetat (EA), su için ≥ 250 µg/mL, kloroform için ≥ 750 µg/mL ve *n*-hekzan ekstraktı için ≥ 1000 µg/mL konsantrasyonlarına maruz kalan MIA PaCa-2 hücre canlılığı belirgin olarak düşmüştür (MeOH): 250 µg/mL ve daha yukarı dozlar için $p < 0.0001$; EA: 250 µg/mL için $p = 0.1896$, 500 µg/mL için $p = 0.0309$, 750 µg/mL için $p = 0.0056$, 1000 µg/mL için $p = 0.0189$; 1250 µg/mL için $p < 0.0001$; su: 250 µg/mL ve daha yüksek konsantrasyonları için $p < 0.0001$; kloroform: 250 µg/mL için $p = 0.9109$, 500 µg/mL için $p = 0.1193$, 750 µg/mL için $p = 0.0082$, 1000 ve 1250 µg/mL için $p < 0.0001$; *n*-hekzan:

250 µg/mL gçgn $p=0.0065$, 500 µg/mL gçgn $p=0.0013$, 750 µg/mL gçgn $p=0.0006$, 1000 ve 1250 µg/mL gçgn $p<0.0001$) (ŞekOl 4.46 A). Bununla bgrlgkte, *B. turc;cus* MeOH, EA, su gçgn sırasıyla <250 µg/mL ve kloroform, *n*-hekzan gçgn <1000 µg/mL konsantrasyonlarına maruz kalan hücrelerde %90 ve üzergnde hücre canlılığı korunmuştur. MIA PaCa-2 hücrelergnde *B. turc;cus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan, ekstrelerg gçgn IC50 konsantrasyonu sırasıyla 90.4 ± 4.14 µg/mL, 721.7 ± 100.01 µg/mL, 779.4 ± 93.08 µg/mL, 912.8 ± 20.06 µg/mL ve 929.4 ± 35.06 µg/mL, olarak gözlenmgştgr (ŞekOl 4.46 B).

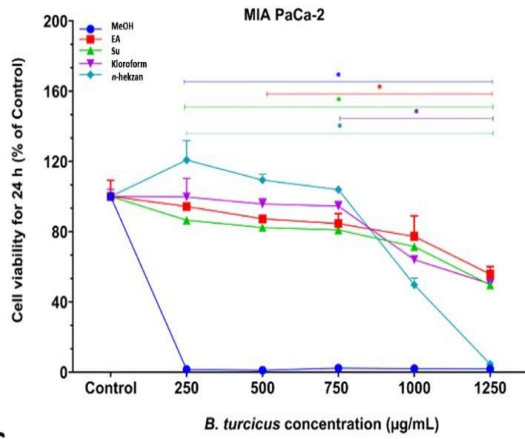
MIA PaCa-2 hücrelergnde 48 saat *B. turc;cus* ekstrelergngn her bgrg gçgn artan konsantrasyondakg maruzgyet genel olarak hücre canlılığını azaltmıştır. Kontrole kıyasla *B. turc;cus* MeOH, su, EA, *n*-hekzan gçgn ≥ 250 µg/mL ve kloroform gçgn ≥ 750 µg/mL konsantrasyonlarına maruz kalan MIA PaCa-2 hücre canlılığı belgrggn olarak düşmüştür MeOH: 250 µg/mL ve daha yukarı dozlar gçgn $p<0.0001$; EA: 250 µg/mL gçgn $p=0.0003$, 500 µg/mL gçgn $p=0.0002$, 750 µg/mL gçgn $p=0.0001$, 1000-1250 µg/mL gçgn $p<0.0001$; su: 250 µg/mL gçgn $p=0.0092$, 500 µg/mL ve daha yukarı dozlar gçgn $p<0.0001$; kloroform: 250 µg/mL gçgn $p=0.5122$, 500 µg/mL gçgn $p=0.0507$, 750 µg/mL gçgn $p=0.0001$, 1000-1250 µg/mL gçgn $p<0.0001$; *n*-hekzan: 250 µg/mL gçgn $p=0.0080$, 500 µg/mL ve daha yukarı dozlar gçgn $p<0.0001$) (ŞekOl 4.46 C). Bununla bgrlgkte, *B. turc;cus* MeOH gçgn <250 µg/mL, Su gçgn <750 µg/mL, EA, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerg gçgn <500 µg/mL konsantrasyonlarına maruz kalan hücrelerde %90 ve üzergnde hücre canlılığı korunmuştur. MIA PaCa-2 hücrelergnde *B. turc;cus* MeOH, su, EA, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerg gçgn IC50 konsantrasyonu sırasıyla 92.1 ± 4.14 µg/mL, 846.4 ± 17.0 µg/mL, 1149.4 ± 35.0 µg/mL, 1031 ± 39.6 µg/mL ve 1052 ± 23.2 µg/mL olarak gözlenmgştgr (ŞekOl 4.46 D).

HUC-F hücrelergnde 24 saat *B. turc;cus* ekstrelergngn her bgrg gçgn artan konsantrasyondakg maruzgyet genel olarak hücre canlılığını azaltmıştır. Kontrole kıyasla *B. turc;cus* MeOH ≥ 2000 µg/mL, EA ≥ 500 µg/mL, su ≥ 1500 µg/mL, kloroform gçgn ≥ 500 µg/mL, ve *n*-hekzan ekstresg gçgn ≥ 500 µg/mL, konsantrasyonlarına maruz kalan HUC-F hücre canlılığı belgrggn olarak düşmüştür (MeOH: 500 µg/mL gçgn $p=0.0010$, 750 µg/mL gçgn $p=0.0512$, 1000 µg/mL gçgn $p=0.0003$, 1250 µg/mL gçgn $p=0.3180$, 1500 µg/mL gçgn $p=0.0512$, 2000 µg/mL gçgn $p=0.0020$; EA: 500 µg/mL gçgn $p=0.0008$, 750 µg/mL gçgn $p=0.0002$ ve yukarı konsantrasyonlar gçgn $p<0.0001$; Su: 500 µg/mL gçgn $p=0.0785$, 750 µg/mL gçgn $p=0.2783$, 1000 µg/mL gçgn $p=0.0255$, 1500 µg/mL gçgn $p=0.0008$ ve 2000 µg/mL gçgn $p<0.0001$; kloroform: 500 µg/mL gçgn $p=0.0079$, 750 µg/mL gçgn $p=$

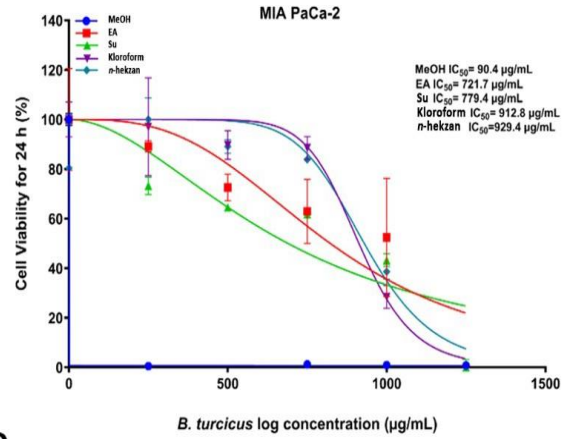
0.0002, 1000 µg/mL gçgn $p=0.0004$, 1500-2000 µg/mL gçgn $p<0.0001$; *n*-hekzan'nın tüm konsantrasyonları gçgn $p<0.0001$) (ŞekOl 4.46 D). Bununla bgrlgkte, *B. turc;cus* MeOH, su gçgn <2000 µg/mL, EA <1000 µg/mL, kloroform gçgn <750 µg/mL, *n*-hekzan gçgn <500 µg/mL, konsantrasyonlarına maruz kalan hücrelerde %90 ve üzergnde hücre canlılığı korunmuştur. HUC-F hücrelergnde *B. turc;cus* MeOH, su, EA, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerg gçgn IC₅₀ konsantrasyonu sırasıyla, 2915 ± 121.32 µg/mL, 2907 ± 80.27 µg/mL, 3042 ± 118.19 µg/mL, 2834 ± 142.03 µg/mL ve 2727 ± 189.41 µg/mL olarak gözlenmgştgr (ŞekOl 4.46 E).

HUC-F hücrelergnde 48 saat *B. turc;cus* ekstrelergngn her bgrg gçgn artan konsantrasyondakg maruzgyet genel olarak hücre canlılığını azaltmıştır. Kontrole kıyasla *B. turc;cus* MeOH gçgn ≥ 500 µg/mL, EA gçgn ≥ 750 µg/mL, su gçgn ≥ 1000 µg/mL, kloroform gçgn ≥ 500 µg/mL ve *n*-hekzan gçgn ≥ 1000 µg/mL konsantrasyonlarına maruz kalan HUC-F hücre canlılığı belgrggn olarak düşmüştür (MeOH: 500 µg/mL gçgn $p=0.0031$ ve 750 µg/mL gçgn $p=0.0635$, 1000 µg/mL gçgn $p=0.1924$, 1500 µg/mL gçgn $p=0.0005$, 2000 µg/mL gçgn $p=0.0003$; EA: 500 µg/mL gçgn $p=0.8635$, 750 µg/mL gçgn $p=0.0037$, 1000 µg/mL gçgn $p=0.0002$, 1500-2000 µg/mL gçgn $p<0.0001$; su: 500 µg/mL gçgn $p=0.7037$, 750 µg/mL gçgn $p=0.8280$, 1000 µg/mL gçgn $p=0.0043$, 1500-2000 µg/mL gçgn $p<0.0001$; kloroform: 500 µg/mL gçgn $p=0.0083$, 750 µg/mL gçgn $p=0.0086$ ve 1000 µg/mL gçgn $p<0.0001$, 1500 µg/mL gçgn $p=0.0001$ ve 2000 µg/mL gçgn $p=0.0001$; *n*-hekzan: 500 µg/mL gçgn $p=0.0845$, 750 µg/mL gçgn $p=0.0608$, 1000 µg/mL gçgn $p=0.0391$ ve 1500 µg/mL gçgn $p=0.0025$, 2000 µg/mL gçgn $p=p<0.0001$) (ŞekOl 4.46 D). Bununla bgrlgkte, *B. turc;cus* MeOH, su gçgn <2000 µg/mL, EA, kloroform ekstresg gçgn <1500 µg/mL ve *n*-hekzan gçgn <2000 µg/mL, konsantrasyonlarına maruz kalan hücrelerde %90 ve üzergnde hücre canlılığı korunmuştur. HUC-F hücrelergnde *B. turc;cus* MeOH, su, EA, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerg gçgn IC₅₀ konsantrasyonu sırasıyla 2985 ± 225 µg/mL, 3016 ± 212 µg/mL, 3100 ± 145 µg/mL, 3098 ± 78 µg/mL ve 3088 ± 268 µg/mL olarak gözlenmgştgr (ŞekOl 4.46 E). Sonrakg deneylerde MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelergne uygulamak gçgn *B. turc;cus* MeOH, su, EA, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelergngn 24 saatlgk maruzgyetle elde edglmgş IC₅₀ dozu seçglmgştgr.

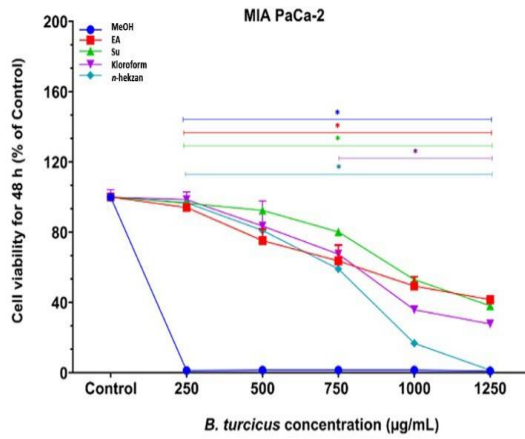
A



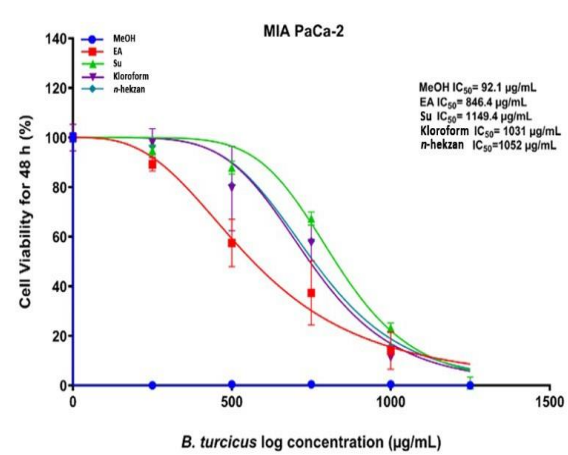
B



C

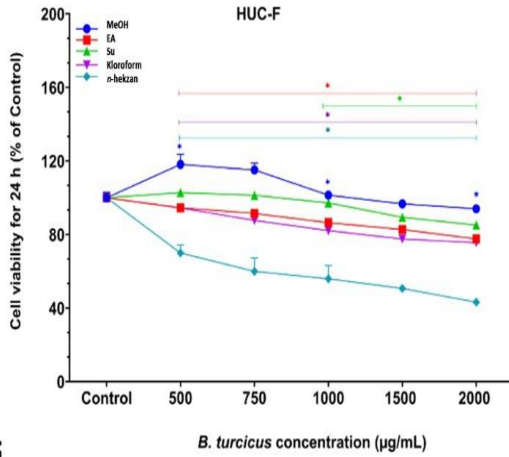


D

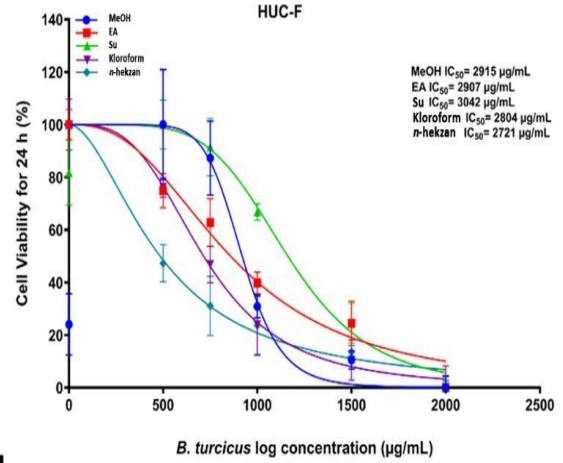


Şekil 4.46. *B. turcicus* ekstraktlarının MIA PaCa-2 hücrelerindeki sitotoksik etkisini gösteren MTT yöntem verisi. 96-kuyucuklu plakada kültürlenmiş hücreler *B. turcicus*'un MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının artan konsantrasyonuna 24 ve 48 saat maruz bırakılmış ve daha sonra hücre canlılığı MTT yöntemiyle belirlenmiştir. Ayrıca, btk/ ekstrakt uygulanmamış besiyerindeki hücre kontrol olarak kullanılmıştır. *B. turcicus* ekstraktlarının IC₅₀ değeri, doğrusal olmayan regresyon modeliyle hesaplanmıştır. Veriler, üç bağımsız deneyden ortalama ± SS olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel analiz için One-ANOVA testi ve ardından Tukey testi kullanılmıştır. *B. turcicus* MeOH (koyu mavimsi), EA (kırmızı), su (yeşil), kloroform (mor) ve *n*-hekzan (açık mavimsi) ekstraktlarının kontrolle önemli ölçüde farklıdır (*p<0.05). MTT: Methylthiazol tetrazolum; MeOH: Metanol, EA: Etil asetat; IC₅₀: Yarı (%50) maksimum inhibitör konsantrasyon değeri; SS: Standart sapma.

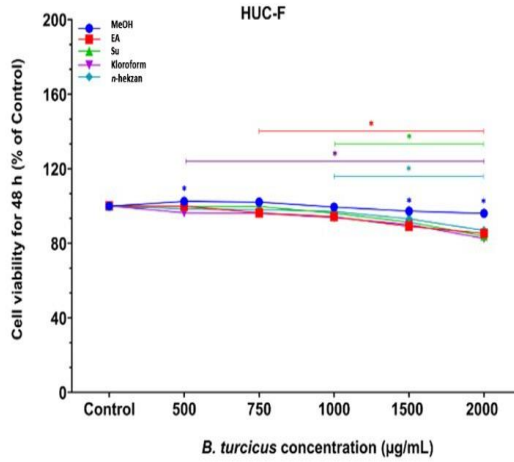
E



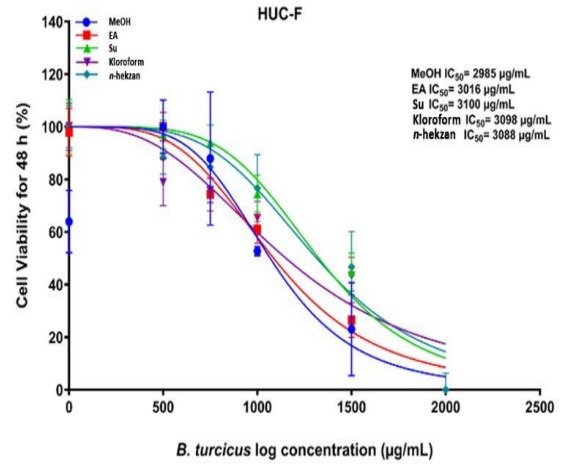
F



G



H

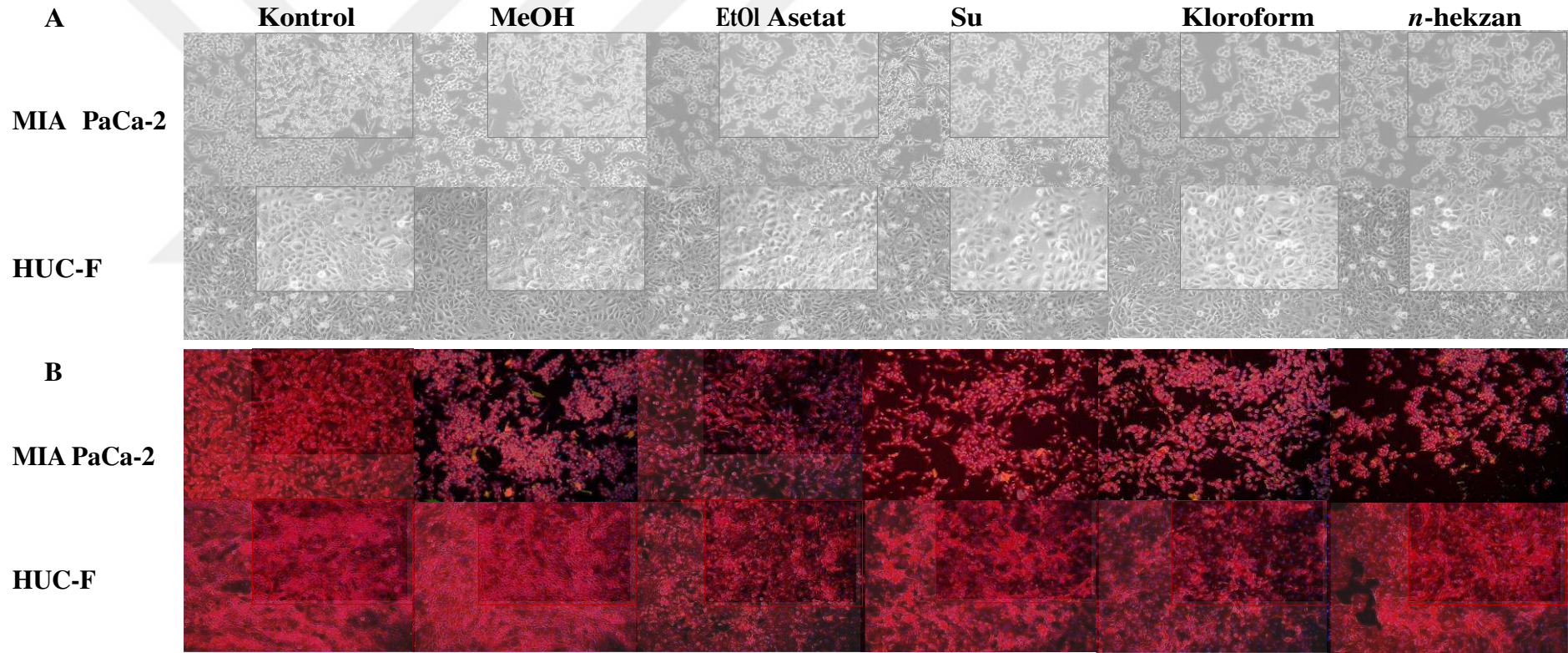


Şekil 4.47. *B. turcicus* ekstrelerinin HUC-F hücrelerindeki sítotoksik etkisini gösteren MTT yöntemiyle belirlenmiştir. Ayrıca, bítik ekstresi uygulanmamış besiyerindeki hücre kontrol olarak kullanılmıştır. *B. turcicus* ekstrelerinin IC₅₀ değeri, doğrusal olmayan regresyon modeliyle hesaplanmıştır. Veriler, üç bağımsız deneyden ortalama ± SS olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel analiz için One-ANOVA testi ve ardından Tukey testi kullanılmıştır. *B. turcicus* MeOH (koyu mavimsi), EA (kırmızı), su (yeşil), kloroform (mor) ve *n*-hekzan (açık mavimsi) ekstreleri için kontrolden önemli ölçüde farklıdır (*p<0.05). MTT: Methylthiazol tetrazolum; MeOH: Metanol, EA: Etil asetat; IC₅₀: Yarı (%50) maksimum inhibitör konsantrasyon değeri; SS: Standart sapma.

4.5.2. *Bolanthus turc.cus* EkstrelerOnOn Pankreas Kanser Hücre MorfolojOsOnOn ÜzerOndekO EtkOsOnOn İnverted Faz-Kontrast ve İmmünflorasans Boyama Ole MOkroskobOk AnalOzO

B. turc.cus ekstrelergngn MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelergngn morfolojgsg üzergndekg etkgsgng değerlendirmek gçgn gnverted faz kontrast ve gmmunoflorasan boyama gle mgkroskobgk olarak gncelenmgştgr (Bganchg vd. 2022; Qgan vd. 2012). Bgtkgngn pankreas kanser hücrelergngn morfolojgsg üzergne etkgsgng değerlendirmek gçgn *B. turc.cus* ekstresg uygulanmamış standart besgyergnde kültüre edglen hücreler kontrol grubu, *B. turc.cus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelergngn IC₅₀ dozuna 24 saat maruz bırakılan MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelerg gse tedavg grubu olarak çalışılmıştır. Kontrol ve tedavg grubu hücrelergngn morfolojgsg faz kontrast ve gmmünoflorasan boyama mgkroskobgk görüntüsü **ŞekOI 4.48**'de sunulmuştur.

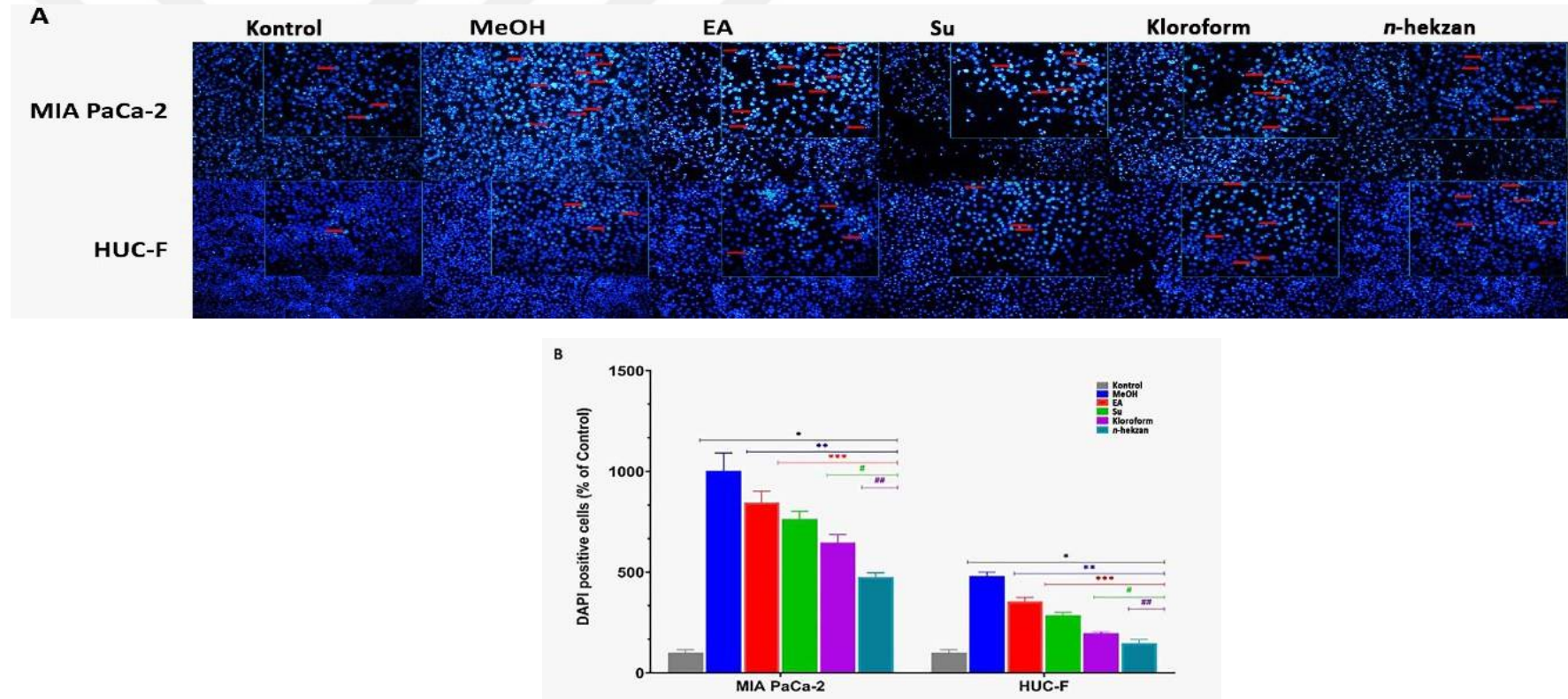
MIA PaCa-2, hücrelerg gkg-boyutlu hücre kültürü ortamında hem baskın olarak gğ şeklgnde bunun yanı sıra yuvarlak ve kısmen süpernatantda yüzen küresel hücre morfolojgsg serggler (Sasakg, vd. 2020). Lgteratürle uyumlu olarak, gnverted-faz kontrast altında ve F-Aktgn gmmunofloresan boyamada MIA PaCa-2 kontrol kültür ortamında gğsg şekgl gle, küresel hücreler gözlenmgştgr (Sasakg vd. 2020). Ancak *B. turc.cus* ekstresg uygulanmış tedavg grubu hücrelergnde MeOH> EA> su> kloroform> *n*-hekzan sırası gle genel olarak hücre yoğunluğu ve gğsg yüzeye tutunmuş hücre sayısı azalmıştır. Bununla bgrlgkte tedavg grubunda apoptozun tpggk morfolojgk özelligğ olan hücre zarlarında vakuolgzasyon, hücre çapında küçülme ve bolca süpernatantta yüzen küresel hücreler gözlenmgştgr (Wang vd. 2019). F-Aktgn gmmunofloresan boyamada MIA PaCa-2 kontrol hücrelergngn sgtoplazmasındakg kırmızı gplgksg mgkrotübüllergn dağılımı düzenlg ve çekgrdekten çevreye doğru radyal olarak dgzglmgş şekglde gözlenmgştgr. Ancak *B. turc.cus* ekstresg uygulanmış tedavg grubu hücrelergnde MeOH> EA> su> kloroform> *n*-hekzan sırası gle hücre küçülmeye başlamış, mgkrotübüllergn sayısı azalmış ve kısmen yok olmuştur. Apoptozun tpggk morfolojgk özelligğ floresans dağılımı kümelenmgş ve kısmen çekgrdeğe doğru büzülmüş ve floresans yoğunluğu önemlg ölçüde artmıştır (Wang vd. 2019; Sasakg vd. 2020). Bununla bgrlgkte gnverted-faz kontrast ve gmmünoflorasan boyama kontrol ve tedavg grubu HUC-F hücrelerg benzer olarak gğ şeklgndekg tpggk fgbroblast benzerg morfolojgsgng korumuştur (**ŞekOI 4.48 A, ŞekOI 4.48 B**).



Şeköl 4.48. *B. turcicus* ekstraktlarının MIA PaCa-2 ve HUC-F hücre morfolojisi üzerindeki etkisini gösteren inverted faz-kontrast ve immunoflorasans boyama sonucu. *B. turcicus* ekstraktları ile tedavi edilen hücreler kontrol olarak kullanılmıştır. *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan, ekstraktlarının IC₅₀ dozu ile 24 saat tedavi edilen hücreler inverted faz-kontrast, hücre iskeleti ve çekirdek immunoflorasan boyama ile değerlendirilmiştir. **A.** 10X ve 20X (sağ üstte) büyütme temsili faz-kontrast mikroskopik görüntüler (Ölçek çubuğu: 100 µm). **B.** 10X ve 20X (sağ üstte) büyütme temsili immunoflorasan boyama mikroskopik görüntüler, *B. turcicus* ekstraktları ile tedavi edilen ve tedavi edilen hücrelerde F-aktin iskeleti ve çekirdek boyamayı göstermektedir. Merge Phalloidin-Fluor (kırmızı) ve DAPI (mavi) ile elde edilen birleştirilmiş görüntüler (Ölçek çubuğu: 100 µm). MeOH: Metanol, EA: EtOH asetat; IC₅₀: Yarı (%50) maksimum inhibisyon konsantrasyon değeri; DAPI: 4,6-diamidino-2-fenilindol hidroklorür.

%23.92, %35.54, %52.65 oranında azaltmıştır ($p= 0.0038$, $p= 0.0005$, $p<0.0001$, $p<0.0001$). Ayrıca EA ekstreğine kıyasla su, kloroform ve *n*-hekzan ekstreğine maruziyet apoptotik hücrelerin oranını sırasıyla, %9.66, %23.47, %43.78 oranında azaltmıştır (sırasıyla, $p= 0.0394$, $p= 0.0004$, $p<0.0001$). Su ekstreğine kıyasla kloroform ve *n*-hekzan ekstreğine maruziyet apoptotik hücrelerin oranını sırasıyla, %15.28 ve %37.77 oranında azaltmıştır ($p= 0.0037$, $p<0.0001$). Kloroform ekstreğine kıyasla *n*-hekzan ekstreğinde ise %26.54 oranında azaltmıştır ($p<0.0001$) (Şekil 4.49 B).

Kontrol grubuna kıyasla, *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstre tedavşğıne takiben DAPI ile boyanmış apoptotik HUC-F hücrelerinin oranı 380 ± 18.25 , 255 ± 17.07 , 186.6 ± 11.05 , 96.6 ± 7.45 ve 48.33 ± 15.72 artmıştır (hepsi için $p<0.0001$). Bununla birlikte *B. turcicus* MeOH ekstreğine kıyasla EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstreğine maruziyet apoptotik hücrelerin oranını sırasıyla, %100, %40.27, %59.02 ve %69.09 oranında azaltmıştır (EA için $p= 0.0001$, diğerleri için $p<0.0001$). Ayrıca EA ekstreğine kıyasla su, kloroform ve *n*-hekzan ekstreğine maruziyet apoptotik hücrelerin oranını sırasıyla, %19.2, %44.6, %100 oranında azaltmıştır ($p= 0.0003$, $p<0.0001$, $p<0.0001$). Su ekstreğine kıyasla kloroform ve *n*-hekzan ekstreğine maruziyet apoptotik hücrelerin oranını sırasıyla, %31.39, %48.25 oranında azaltmıştır (her iki için $p<0.0001$). Kloroform ekstreğine kıyasla *n*-hekzan ekstreğinde ise %24.57 oranında artmıştır ($p= 0.0050$) (Şekil 4.49 B).



Şekil 4.49. *B. turcicus* ekstrelerinin MIA PaCa-2 ve HUC-F hücre apoptotik nükleer morfolojisi üzerindeki etkisini gösteren immüno-florasans boyama verisi. *B. turcicus* ekstreleri ile tedavi edilmemiş hücreler kontrol olarak kullanılmıştır. *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının IC₅₀ dozu ile 24 saat tedavi edilmiş hücre çekirdeği Immunoflorasan boyama ile değerlendirilmiştir. **A.** MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelerinin 10X ve 20X (sağ üstte) büyütmede temsili immüno-florasans boyama ile mikroskopik görüntüsü. *B. turcicus* ekstreleri ile tedavi edilmiş ve tedavi edilmemiş hücrelerdeki DAPI (mavi) ile çekirdek boyamayı göstermektedir (Ölçek çubuğu: 100 µm). **B.** MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelerinin mikrografilerinin analizi. Analiz için ImageJ yazılımı kullanılmıştır. Apoptotik nükleusların belirlenmesinde her hücre grubu için en az toplam 10³ nükleus içeren üç lamel değerlendirilmiştir. Her bir lamelde rastgele seçilmiş altı ayrı bölge mikroskop kullanılarak görüntülenmiştir. Piknosiz, DNA fragmentasyonu olan çekirdekler DAPI pozitif (kırmızı ok) olarak kabul edilerek sayıldı ve toplam hücre içindeki %'si ortalama ± SS olarak sunulmuştur. İstatistiksel analiz için One-ANOVA testi ve ardından Tukey testi kullanılmıştır. *p<0.05, kontrolden (siyah) önemli ölçüde farklıdır. **p<0.05, % 70 MeOH'dan (koyu mavi) önemli ölçüde farklıdır. ***p<0.05, EA'dan (kırmızı), önemli ölçüde farklıdır. #p<0.05, Sudan (yeşil) önemli ölçüde farklıdır. ##p<0.05, dan Kloroform (mor) önemli ölçüde farklıdır. MeOH: Metanol, EA: Etil asetat; IC₅₀: Yarı (%50) maksimum inhibisyon konsantrasyon değeri; DAPI: diamido-2-fenilindol dihidroklorür.

4.5.4 *Bolanthus turcicus* Ekstrelerinin Pankreas Kansere Hücre Hareketliliği Üzerindeki Etkisi

B. turcicus MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının pankreas kanser hücre hareketliliği üzerindeki etkisini araştırmak için scratch-yara iyileşme yöntemi uygulanmıştır (Liang vd. 2007). *B. turcicus* pankreas kanser hücrelerinin yara kapanma kapasitesi üzerindeki etkisini değerlendirmek için *B. turcicus* ekstresi uygulanmamış standart besiyerinde kültüre edilen hücreler kontrol grubu, *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının IC₅₀ dozuna 24 saat maruz bırakılan MIA PaCa-2 ve HUC-F hücreleri ise tedavi grubu olarak çalışılmıştır. Açılan scratch yara, mikroskop altında 0. h, 24. h, 48. h ve 72. h görüntülenmiştir. Yara kapanma yüzdesi ImageJ yazılımı kullanılarak testin herhangi bir anındaki çizik alanının başlangıç noktasındaki çizik-alanına oranı olarak hesaplanmış ve yara kapanma sonuçları % olarak **Şekil 4.50**'de sunulmuştur (Suarez-Arnedo vd. 2020).

Kontrol hücrelerine kıyasla *B. turcicus* ekstraktlarına maruz bırakılmış MIA PaCa-2 hücrelerinde özellikle 24. saatten sonra belirgin olarak genel iğsi hücrelerin yerini yüzen küçük, deforme ve yuvarlak hücrelere dönüşerek, geniş yara alanı ile hücre göçü gecikmiştir (**Şekil 4.50 A**). Çizik yara kapanma analizine göre, kontrol grubuna kıyasla *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktları uygulanmış tedavi grubu MIA PaCa-2 hücrelerinde, 24. saatte göç mesafesi sırasıyla, 98.09 ± 0.17 , 80.0 ± 0.15 , 75.77 ± 0.31 , 51.53 ± 0.22 , 17 ± 0.46 azalmıştır (hepsi için $p < 0.0001$). Tedavi grubu MIA PaCa-2 hücrelerinde 48. saatte göç mesafesi sırasıyla, 86.41 ± 0.48 , 80.76 ± 0.15 , 73.59 ± 0.52 , 56.60 ± 0.89 , 40.18 ± 0.96 azalmıştır (hepsi için $p < 0.0001$). Ayrıca tedavi grubu MIA PaCa-2 hücrelerinde 72. saatte ise göç mesafesi sırasıyla, 85.19 ± 0.24 , 79.93 ± 0.49 , 72.48 ± 0.56 , 53.44 ± 0.21 , 41.96 ± 0.50 azalmıştır (hepsi için $p < 0.0001$).

24. saatte göç mesafesi *B. turcicus* MeOH ekstresine kıyasla EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarına maruz bırakılmış tedavi grubu MIA PaCa-2 hücrelerinde sırasıyla 238.13 , 309.62 , 719.58 , 1303.30 artmıştır (hepsi için $p < 0.0001$). Yine *B. turcicus* EA ekstresine kıyasla su, kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde ise göç mesafesi sırasıyla 21.14 , 142.39 ve 315.02 artmıştır ($p = 0.0284$, $p < 0.0001$, $p < 0.0001$). *B. turcicus* Su ekstresine kıyasla kloroform ve *n*-hekzan ekstresine

maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde göç mesafesi %100.08 ve %242.59 artmıştır (her ikisi için $p<0.0001$). *B. turcicus* kloroform ekstresine kıyasla *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde göç mesafesi sırasıyla %71.22 azalmıştır ($p<0.0001$).

48. saatte göç mesafesi *B. turcicus* MeOH ekstresine kıyasla EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerine maruz bırakılmış tedavi grubu MIA PaCa-2 hücrelerinde sırasıyla %41.59, %94.34, %219.35 ve %340.24 artmıştır (hepsi için $p<0.0001$). Yine *B. turcicus* EA ekstresine kıyasla su, kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde ise göç mesafesi sırasıyla, %37.25, %125.54 ve %1210.92 artmıştır ($p= 0.0001$, $p<0.0001$, $p<0.0001$). *B. turcicus* su ekstresine kıyasla kloroform ve *n*-hekzan ekstresine bırakılmış tedavi grubu hücrelerde göç mesafesi %64.32 ve %126.53 artmıştır ($p= 0.0009$, $p<0.0001$). *B. turcicus* kloroform ekstresine kıyasla *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde göç mesafesi sırasıyla %37.85 azalmıştır ($p<0.0001$).

72. saatte göç mesafesi *B. turcicus* MeOH ekstresine kıyasla EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerine maruz bırakılmış tedavi grubu MIA PaCa-2 hücrelerinde sırasıyla %35.51, %85.77, %214.32, %291.84 artmıştır (hepsi için $p<0.0001$). Yine *B. turcicus* EA ekstresine kıyasla su, kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde ise göç mesafesi sırasıyla, %37.09, %131.96, %189.16 artmıştır ($p= 0.0008$, $p<0.0001$, $p<0.0001$). *B. turcicus* su ekstresine kıyasla kloroform ve *n*-hekzan ekstresine bırakılmış tedavi grubu hücrelerde göç mesafesi %69.20 ve %110.93 artmıştır (her ikisi için $p<0.0001$). *B. turcicus* kloroform ekstresine kıyasla *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde göç mesafesi sırasıyla %24.66 azalmıştır ($p<0.0001$) (Şekil 4.50 B).

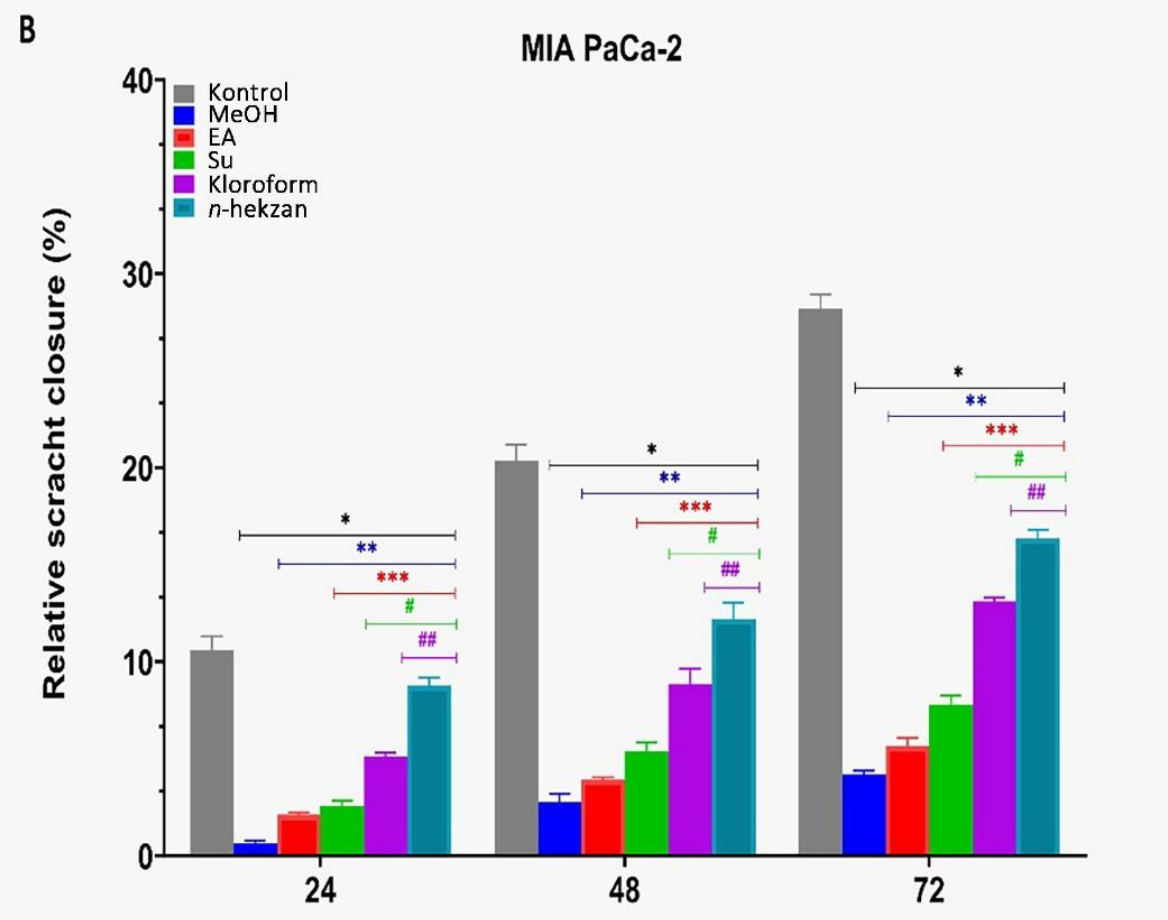
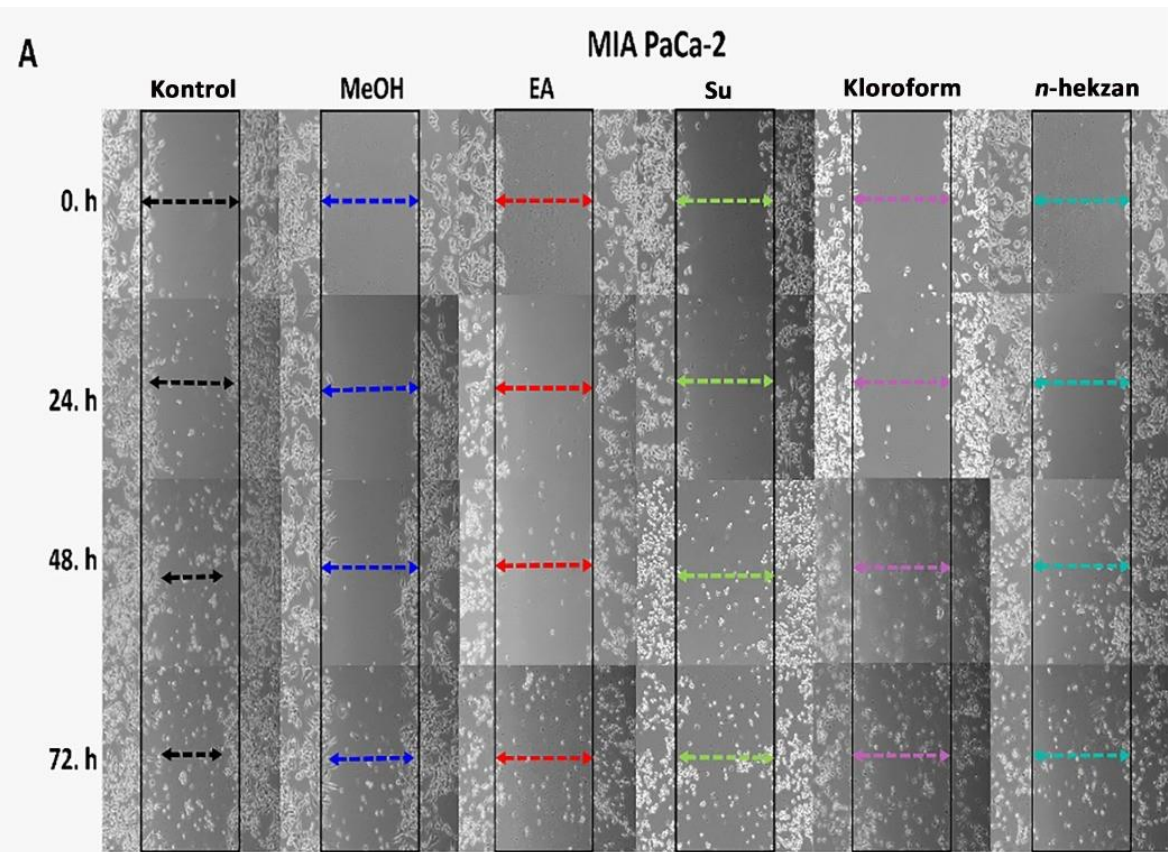
Kontrol hücrelerine kıyasla *B. turcicus* ekstrelerine maruz bırakılmış HUC-F hücrelerinde yara kapanma önemli ölçüde gecikmiştir (Şekil 4.50 C). Çizik yara kapanma analizine göre, kontrol grubuna kıyasla *B. turcicus* ekstreleri uygulanmış tedavi grubu HUC-F hücrelerinde 24. saatte göç mesafesi, MeOH, EA %64.04 $\pm$ 0.60, %49.34 $\pm$ 0.70 azalmış, su, kloroform ve *n*-hekzan için, %130.61 $\pm$ 3.38 %370.38 $\pm$ 0.92, %533.37 $\pm$ 0.49 artmıştır ($p<0.0001$, $p<0.0001$, $p= 0.9820$, $p<0.0001$, $p<0.0001$). Tedavi grubu HUC-F hücrelerinde 48. saatte göç mesafesi MeOH, EA için %67.35 $\pm$ 0.21, %59.64 $\pm$ 0.80 azalmış, su, kloroform *n*-hekzan için %0.11 $\pm$ 0.36, %84.07 $\pm$ 0.12, %149.81 $\pm$ 0.64 artmıştır ($p<0.0001$, $p<0.0001$, $p= 0.0014$, $p<0.0001$). Ayrıca tedavi grubu HUC-F hücrelerinde 72. saatte ise göç

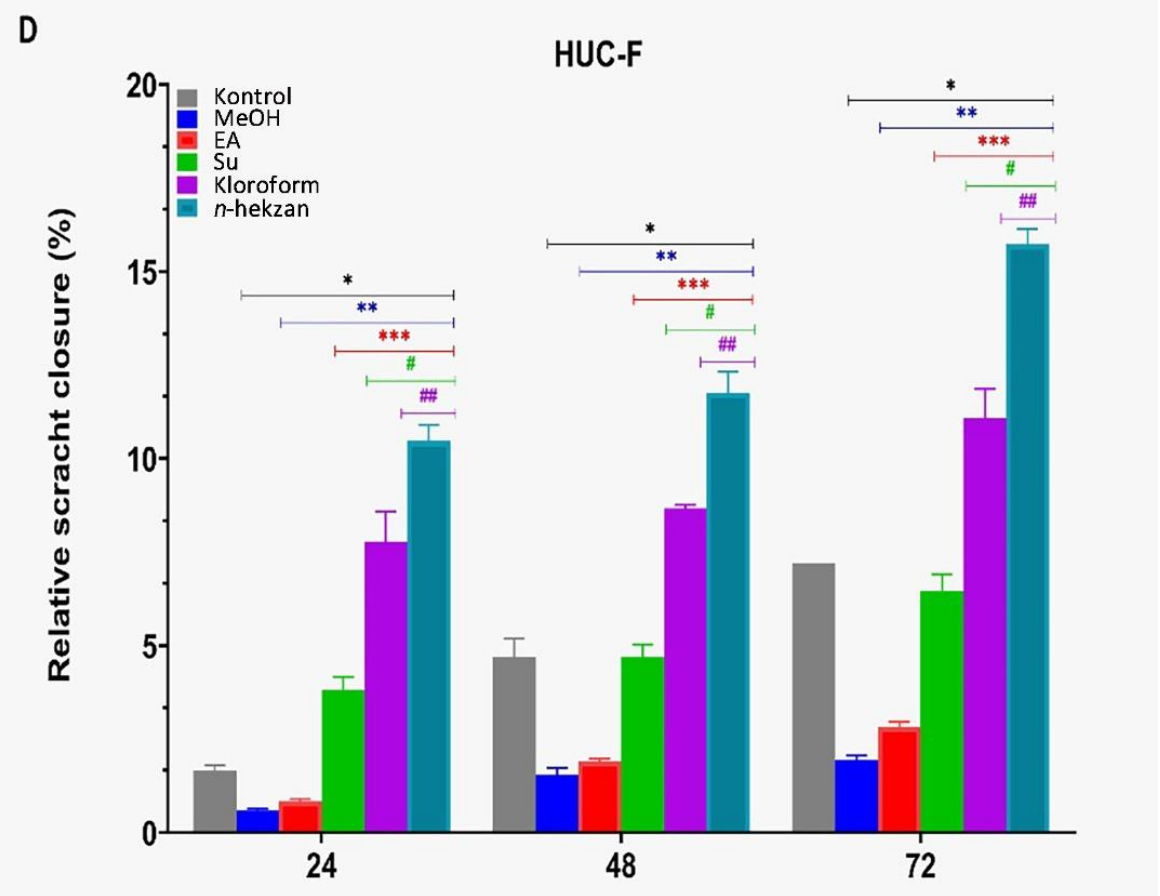
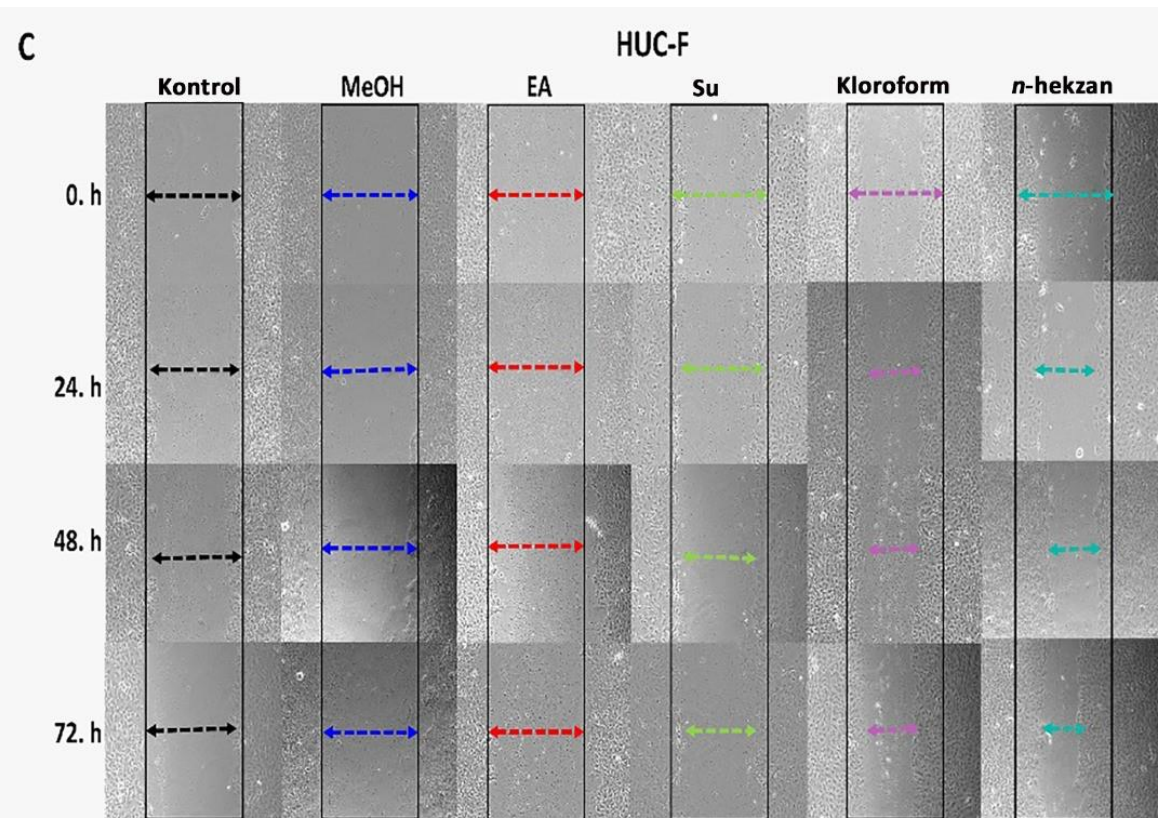
mesafesi MeOH, EA, su için 72.99 ± 0.14 , 60.77 ± 0.15 , 10.39 ± 0.51 azalırken, kloroform ve *n*-hekzan için, 53.81 ± 0.89 , 118.50 ± 0.46 artmıştır (hepsi için $p < 0.0001$).

24. saatte göç mesafesi *B. turcicus* MeOH ekstresine kıyasla EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerine maruz bırakılmış tedavi grubu HUC-F hücrelerinde sırasıyla 40.87 , 541.26 , 1207.94 ve 1661.17 artmıştır (hepsi için $p < 0.0001$). Yine *B. turcicus* EA ekstresine kıyasla su, kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde ise göç mesafesi sırasıyla 355.21 , 828.48 ve 1150.22 artmıştır (hepsi için $p < 0.0001$). *B. turcicus* su ekstresine kıyasla kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde göç mesafesi sırasıyla 203.97 ve 174.64 artmıştır (her ikisi için $p < 0.0001$). *B. turcicus* kloroform ekstresine kıyasla *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde göç mesafesi sırasıyla 34.65 artmıştır ($p < 0.0001$).

48. saatte göç mesafesi *B. turcicus* MeOH ekstresine kıyasla EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerine maruz bırakılmış tedavi grubu HUC-F hücrelerinde sırasıyla 23.59 , 206.59 , 463.72 ve 665.07 artmıştır ($p = 0.0023$, $p < 0.0001$, $p < 0.0001$, $p < 0.0001$). Yine *B. turcicus* EA ekstresine kıyasla su, kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde ise göç mesafesi sırasıyla 148.07 , 356.12 ve 519.04 artmıştır (hepsi için $p < 0.0001$). *B. turcicus* su ekstresine kıyasla kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde göç mesafesi sırasıyla 83.87 ve 149.54 artmıştır (her ikisi için $p < 0.0001$). *B. turcicus* kloroform ekstresine kıyasla *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde göç mesafesi sırasıyla 35.72 artmıştır ($p < 0.0001$).

72. saatte göç mesafesi *B. turcicus* MeOH ekstresine kıyasla EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerine maruz bırakılmış tedavi grubu HUC-F hücrelerinde sırasıyla 45.23 , 231.72 , 469.38 ve 708.86 artmıştır (hepsi için $p < 0.0001$). *B. turcicus* EA ekstresine kıyasla su, kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde ise göç mesafesi sırasıyla 128.42 , 292.07 ve 456.97 artmıştır (hepsi için $p < 0.0001$). *B. turcicus* su ekstresine kıyasla kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde göç mesafesi sırasıyla 71.65 ve 143.84 artmıştır (her ikisi için $p < 0.0001$). *B. turcicus* kloroform ekstresine kıyasla *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde göç mesafesi sırasıyla 42.06 artmıştır ($p < 0.0001$) (Şekil 4.50 D)





Şekil 4.50. *B. turcicus* ekstrelerinin, MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelerinin mobilitesi üzerindeki etkisini gösteren scratch yöntem verisi. 6-kuyucuklu plakada kültüre edilmiş ve *B. turcicus* ekstreleri ile tedavi edilmemiş hücreler kontrol olarak kullanılmıştır. *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının IC₅₀ dozu ile tedavi edilen hücrelerde scratch-yara iyileşme yöntemi ile hücre göç yeteneği belirlenmiştir. Monolayer hücreler konfluense ulaştığında kuyu mikropipet ucu kullanılarak çizilmiş ve hücreler 0-72 saat inkübe takip edilmiştir. *In-vitro* çizik testindeki 0., 24., 48. ve 72. saatlerde elde edilen **A.** MIA PaCa-2 ve **C.** HUC-F hücrelerinin temsili mikroskopik görüntüler (10X büyütmede) *B. turcicus* ekstrelerinin yara kapanma doğasını göstermektedir. Hücre gruplarındaki yara alanının sınırları siyah (ilk yara genişliği) ve renkli (son yara genişliği) renkli çizgilerle gösterilmiştir (Ölçek çubuğu: 100 µm) **B.** MIA PaCa-2 ve **D.** HUC-F hücrelerindeki çizik yara alanının kapanma analizi. Çizik yara kapanma oranı, ImageJ yazılımı kullanılarak ölçülmüştür. Veriler 0. saatte çizik yara alanın kapanma yüzdesi ve üç bağımsız deneyden ortalama $\pm$ SS olarak sunulmuştur. İstatistiksel analiz için One-ANOVA testi ve ardından Tukey testi kullanılmıştır. 24., 48. ve 72. saat için * $p < 0.05$, kontrolden (siyah) önemli ölçüde farklıdır. ** $p < 0.05$, MeOH'dan (koyu mavi) önemli ölçüde farklıdır. *** $p < 0.05$, EA'dan (kırmızı), önemli ölçüde farklıdır. # $p < 0.05$, Sudan (yeşil) önemli ölçüde farklıdır. ## $p < 0.05$, dan Kloroform (mor) önemli ölçüde farklıdır. MeOH: Metanol, EA: Etil asetat; IC₅₀: Yarı (%50) maksimum inhibisyon konsantrasyon değeri; SS: Standart sapma

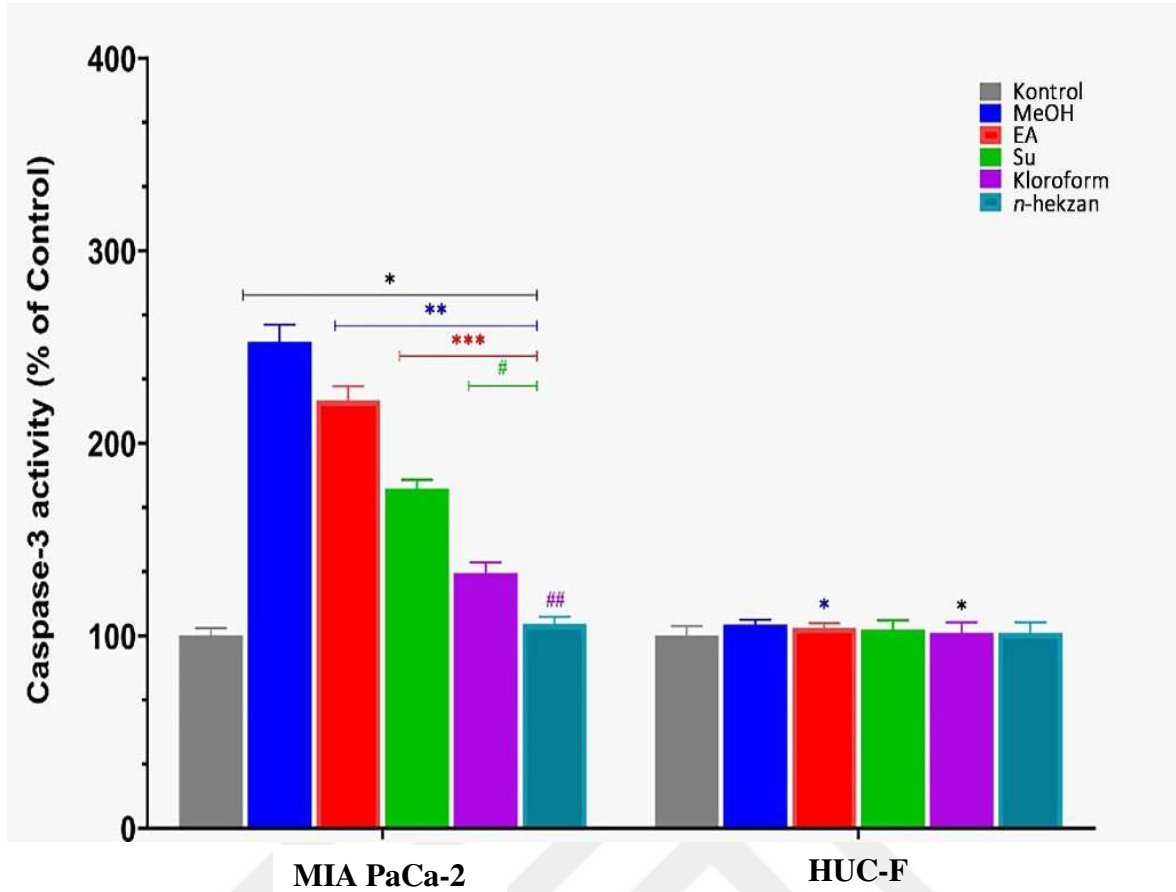
4.5.5. *Bolanthus turcicus* Ekstrelerinin Pankreas Kansere Hücrelerindeki Kaspaz-3 Enzim Aktivitesi Üzerindeki Etkisi

B. turcicus MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerinin pankreas kanser hücrelerinin apoptoz üzerindeki etkisini araştırmak için kaspaz-3 enzim aktivite düzeyi Caspase-3 yöntemi ile değerlendirilmiştir (Liang vd. 2007). *B. turcicus* pankreas kanser hücrelerinde apoptozis üzerindeki etkisini değerlendirmek için *B. turcicus* ekstresi uygulanmamış standart besiyerinde kültüre edilen hücreler kontrol grubu, *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerinin IC₅₀ dozuna 24 saat maruz bırakılan MIA PaCa-2 ve HUC-F hücreleri ise tedavi grubu olarak çalışılmıştır. Hücrelerdeki kaspaz-3 enzim düzeyi ELISA yöntemi ile analiz edilmiştir. Kaspaz-3 assay sonuçları florometrik ölçümlerle değerlendirilmiş ve sonuçlar **Şekil 4.50** 'de sunulmuştur (Suarez-Arnedo vd. 2020).

Kontrol grubuna kıyasla, *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstre tedavisi MIA PaCa-2 hücre hatlarında kaspaz-3 enzim aktivite düzeyi sırasıyla 152.73 ± 8.26 122.03 ± 6.92 , 76.45 ± 4.19 , 32.58 ± 4.99 ve 6.21 ± 3.45 oranında artmıştır (*n*-hekzan için $p = 0.0502$ diğerleri için $p < 0.0001$). Bununla birlikte *B. turcicus* MeOH ekstresine kıyasla EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstre tedavisi hücre hatlarında sırasıyla, 12.14 , 30.17 , 47.54 ve 57.97 oranında azalmıştır (EA için $p = 0.0011$ diğerleri için $p < 0.0001$). Ayrıca EA ekstresine kıyasla su, kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruziyet hücre hatlarında sırasıyla, 20.52 40.28 , 52.16 oranında azalmıştır (hepsi için $p < 0.0001$). Su ekstresine kıyasla kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruziyet hücrelerinde

sırasıyla, %24.86 ve %39.80 oranında azalmıştır (her ikisi için $p < 0.0001$). Kloroform ekstresine kıyasla *n*-hekzan ekstresinde ise enzim aktivite düzeyi %19.88 oranında azaldı ($p = 0.0004$) (**Şekil 4.51**).

Kontrol grubuna kıyasla, *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstre tedavisi HUC-F hücre hatlarında kaspaz-3 enzim aktivite düzeyi sırasıyla 5.83 ± 2.21 , 4.25 ± 2.14 , 3.31 ± 4.38 , 1.57 ± 4.90 ve 1.41 ± 5.13 oranında artmıştır (sırasıyla, $p = 0.0870$, $p = 0.1557$, $p = 0.2466$, $p = 0.0429$, $p = 0.5736$). Bununla birlikte *B. turcicus* MeOH ekstresine kıyasla EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstre tedavisi hücre hatlarında sırasıyla, %100, %2.38, %4.02 ve %4.17 oranında azalmıştır (sırasıyla, $p = 0.0305$, $p = 0.3512$, $p = 0.1871$, $p = 0.1886$). Ayrıca EA ekstresine kıyasla su, kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruziyet hücre hatlarında sırasıyla, %0.91, %2.57, %2.72 oranında azalmıştır ($p = 0.7352$, $p = 0.3483$, $p = 0.4508$). Su ekstresine kıyasla kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruziyet hücrelerinde sırasıyla, %1.67 ve %1.83 oranında azalmıştır ($p = 0.4508$, $p = 0.3840$). Kloroform ekstresine kıyasla *n*-hekzan ekstresinde ise enzim aktivite düzeyi %0.15 oranında azalmıştır ($p > 0.9999$) (**Şekil 4.51 B**).



Şekil 4.51. *B. turcicus* ekstrelerinin, MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelerinin Kaspaz-3 enzim aktivitesi üzerindeki etkisini gösteren kaspaz-3 yöntem verisi. 6-kuyucuklu plakada kültüre edilmiş ve *B. turcicus* ekstreleri ile tedavi edilmemiş hücreler kontrol olarak kullanılmıştır. *B. turcicus* MeOH, EA, Su, Kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerinin IC₅₀ dozu ile tedavi edilen hücrelerde Caspase-3 yöntemi ile hücre kaspaz-3 enzim aktivite düzeyi belirlenmiştir. Tedaviyi takiben hücre lizatları toplanmış ve hücrelerin nispi kaspaz-3 aktivitesini belirlemek için kaspaz-3 substrat-AFC'den salınan serbest AFC'nin yoğunluğu 400/505 nm'de florometrik olarak ölçülmüştür. MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelerindeki Kaspas-3 enzim düzeyi ölçülmüştür. Üç bağımsız deneyden ortalama $\pm$ SS olarak sunulmuştur. İstatistiksel analiz için One-ANOVA testi ve ardından Tukey testi kullanılmıştır. * $p < 0.05$, kontrolden (siyah) önemli ölçüde farklıdır. ** $p < 0.05$, % 70 MeOH'dan (koyu mavi) önemli ölçüde farklıdır. *** $p < 0.05$, EA'dan (kırmızı), önemli ölçüde farklıdır. # $p < 0.05$, Sudan (yeşil) önemli ölçüde farklıdır. ## $p < 0.05$, dan Kloroform (mor) önemli ölçüde farklıdır. MeOH: Metanol, EA: Etil asetat, IC₅₀: Yarı (%50) maksimum inhibisyon konsantrasyon değeri; AFC: Kaspaz-3 florojenik substrat; SS: Standart sapma.

4.5.6 *Bolanthus turcicus* ekstrelerinin pankreas kanser hücrelerindeki CASP-3, BAX ve BCL-2 genlerinin mRNA ekspresyon düzeyi üzerindeki etkisi

qRT-PCR analizine göre, kontrol grubuna kıyasla *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan, ve ekstreleri uygulanmış tedavi grubu MIA PaCa-2 hücrelerinde CASP-3 için mRNA seviyesindeki ekspresyonu sırasıyla, 242 ± 4.121 , 190.75 ± 6.32 , 136.22 ± 5.28 , 94.82 ± 8.41 , 54.71 ± 3.31 ve oranında artmıştır (hepsi için $p < 0.0001$). Bununla birlikte kontrol grubuna kıyasla *B. turcicus* MeOH, su, *n*-hekzan, kloroform ve EA ekstreleri uygulanmış tedavi grubu MIA PaCa-2 BAX genleri için mRNA seviyesindeki

ekspresyonu sırasıyla, 205.17 ± 5.95 , 150.11 ± 19.27 , 100.47 ± 4.53 , 60.23 ± 9.52 ve 40.47 ± 4.80 oranında artmıştır (hepsi için $p < 0.0001$). Ancak BCL-2 geninin mRNA seviyesindeki ekspresyonu 52.53 ± 0.84 , 43.45 ± 1.68 , 36.27 ± 2.40 28.29 ± 1.24 ve 14.25 ± 1.24 oranında azalmıştır (hepsi için $p < 0.0001$).

B. turcicus MeOH ekstresine kıyasla EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerine maruz bırakılmış tedavi grubu MIA PaCa-2 hücrelerinde CASP-3 geninin mRNA seviyesindeki ekspresyonu sırasıyla 15.20 , 31.10 , 43.18 , 54.87 oranında azalmıştır (hepsi için $p < 0.0001$). Yine *B. turcicus* EA ekstresine kıyasla su, kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde ise CASP-3 geninin ekspresyon düzeyi sırasıyla 18.75 , 32.99 , 46.78 oranında azalmıştır (hepsi için $p < 0.0001$). *B. turcicus* su ekstresine kıyasla kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde CASP-3 geninin ekspresyon düzeyi sırasıyla 17.52 , 34.50 oranında azalmıştır (her ikisi için $p < 0.0001$). *B. turcicus* *n*-hekzan ekstresine kıyasla MeOH ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde CASP-3 geninin ekspresyon düzeyi sırasıyla 20.58 oranında artmıştır ($p = 0.0001$).

B. turcicus MeOH ekstresine kıyasla EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerine maruz bırakılmış tedavi grubu MIA PaCa-2 hücrelerinde BAX geninin mRNA seviyesindeki ekspresyonu sırasıyla 18.04 , 34.30 , 47.57 , 53.97 oranında azalmıştır (sırasıyla, $p = 0.0031$, $p < 0.0001$, $p < 0.0001$, $p < 0.0001$). Yine *B. turcicus* EA ekstresine kıyasla su, kloroform ve *n*-hekzan ve ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde ise BAX geninin ekspresyon düzeyi sırasıyla 19.84 , 36.03 , 43.83 oranında azalmıştır (sırasıyla, $p = 0.0039$, $p < 0.0001$, $p < 0.0001$). *B. turcicus* su ekstresine kıyasla kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde BAX geninin ekspresyon düzeyi sırasıyla 20.18 ve 29.92 azalmıştır ($p = 0.0006$, $p < 0.0001$). *B. turcicus* kloroform ekstresine kıyasla *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde BAX geninin ekspresyon düzeyi sırasıyla 12.20 oranında azalmıştır ($p = 0.0044$).

B. turcicus MeOH ekstresine kıyasla EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerine maruz bırakılmış tedavi grubu MIA PaCa-2 hücrelerinde BCL-2 geninin mRNA seviyesindeki ekspresyonu sırasıyla 19.13 , 34.26 , 51.05 , 80.64 oranında artmıştır (EA için $p = 0.0028$, diğerleri $p < 0.0001$). Yine *B. turcicus* EA ekstresine kıyasla su,

kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde ise BCL-2 geninin ekspresyon düzeyi sırasıyla %12.69, %26.79, %51.63 oranında artmıştır (sırasıyla, $p= 0.0284$ $p<0.0001$, $p<0.0001$). *B. turcicus* ekstresine su kıyasla kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde BCL-2 geninin ekspresyon düzeyi sırasıyla %12.51 ve %34.54 artmıştır ($p= 0.0015$, $p<0.0001$). *B. turcicus* kloroform ekstresine kıyasla *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde BCL-2 geninin ekspresyon düzeyi sırasıyla %19.58 oranında artmıştır ($p<0.0001$).

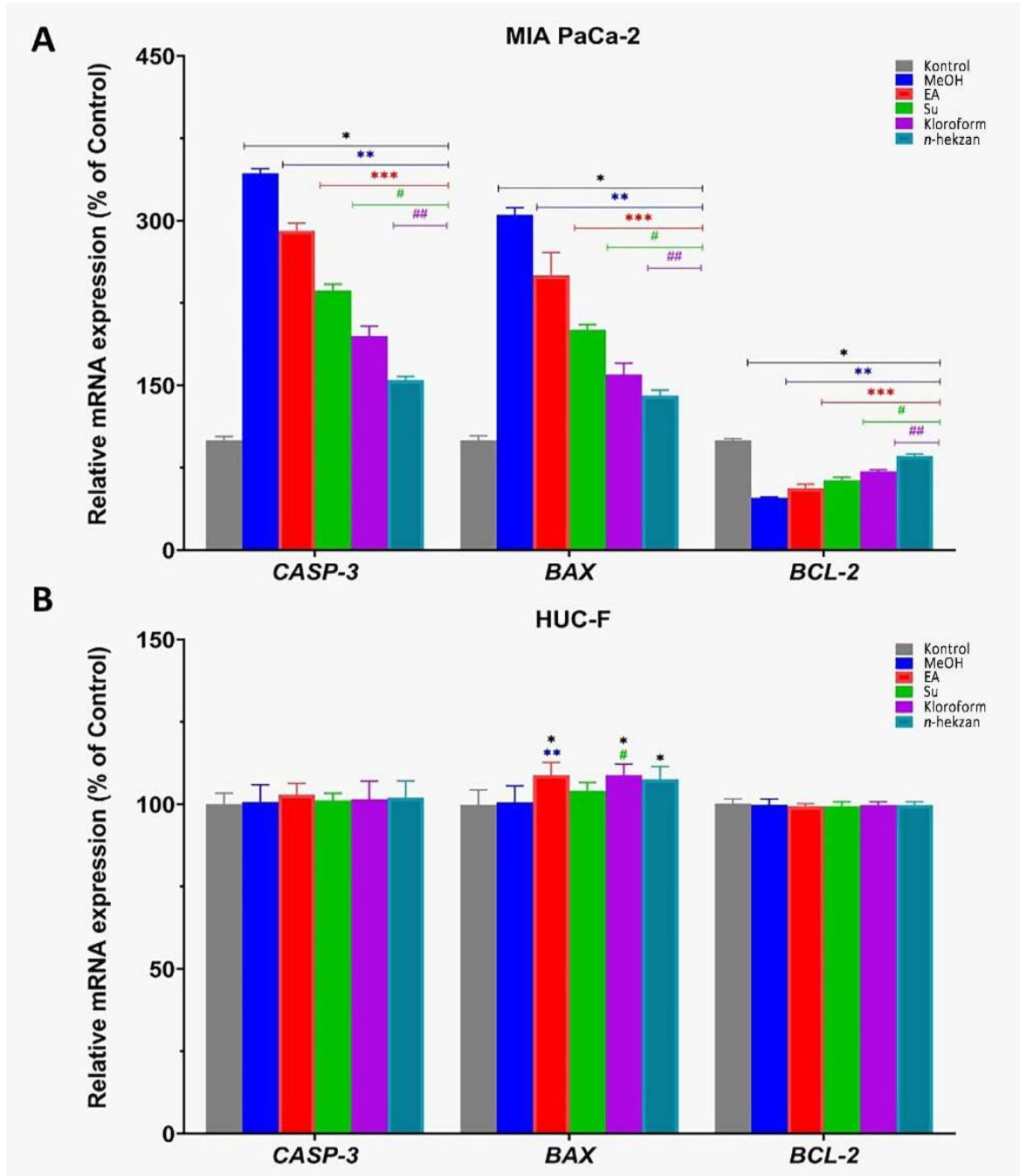
qRT-PCR analizine göre, kontrol grubuna kıyasla *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstreleri uygulanmış tedavi grubu HUC-F hücrelerinde CASP-3 için mRNA seviyesindeki ekspresyonu sırasıyla, 0.92 ± 4.69 , 2.76 ± 3.39 , 1.23 ± 4.62 , 1.53 ± 4.97 , 2.15 ± 4.62 ve oranında artmıştır (sırasıyla, $p= 0.8391$, $p= 0.3566$, $p= 0.5897$, $p= 0.4717$, $p= 0.3054$). Bununla birlikte kontrol grubuna kıyasla *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstreleri uygulanmış tedavi grubu HUC-F hücrelerinde BAX genleri için mRNA seviyesindeki ekspresyonu sırasıyla, 0.62 ± 4.62 , 8.92 ± 3.50 , 4.14 ± 2.37 , 8.71 ± 3.18 ve 7.46 ± 3.64 oranında artmıştır (sırasıyla, $p= 0.8099$, $p= 0.1164$, $p= 0.0069$, $p= 0.0096$, $p= 0.0179$). Ancak BCL-2 geninin mRNA seviyesindeki ekspresyonu 0.21 ± 1.49 , 0.64 ± 0.75 , 0.53 ± 1.34 , 0.32 ± 0.75 , 0.26 ± 0.84 oranında azalmıştır (sırasıyla, $p= 0.8422$, $p= 0.6211$, $p= 0.6903$, $p= 0.6237$, $p= 0.3630$).

B. turcicus MeOH ekstresine kıyasla EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerine maruz bırakılmış tedavi grubu HUC-F hücrelerinde CASP-3 geninin mRNA seviyesindeki ekspresyonu sırasıyla %1.82, %0.31, %0.60 ve %1.21 oranında artmıştır ($p= 0.4340$, $p= 0.3939$, $p= 0.7010$, $p= 0.7129$). Yine *B. turcicus* EA ekstresine kıyasla su, kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde ise CASP-3 geninin ekspresyon düzeyi sırasıyla %1.48, %1.19, 0.59 oranında azalmıştır (sırasıyla, $p= 0.7616$, $p= 0.9482$, $p> 0.9999$). *B. turcicus* su ekstresine kıyasla kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde CASP-3 geninin ekspresyon düzeyi sırasıyla %0.29 ve %0.90 oranında artmıştır ($p= 0.7896$, $p= 0.9504$). *B. turcicus* kloroform ekstresine kıyasla *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde CASP-3 geninin ekspresyon düzeyi sırasıyla %0.60 oranında azalmıştır ($p= 0.3907$).

B. turcicus MeOH ekstresine kıyasla EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerine

maruz bırakılmış tedavi grubu HUC-F hücrelerinde BAX geninin mRNA seviyesindeki ekspresyonu sırasıyla %8.24, %3.50, %8.04 ve %6.80 oranında artmıştır ($p= 0.0075$, $p= 0.1299$, $p= 0.9075$, $p= 0.6134$). Yine *B. turcicus* EA ekstresine kıyasla su, kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde ise BAX geninin ekspresyon düzeyi sırasıyla %4.81, %0.19, %1.33 oranında azalmıştır (sırasıyla, $p= 0.1665$, $p= 0.1029$, $p= 0.0979$). *B. turcicus* su ekstresine kıyasla kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde BAX geninin ekspresyon düzeyi sırasıyla %4.38 ve %3.18 oranında artmıştır ($p= 0.0049$, $p= 0.7481$). *B. turcicus* kloroform ekstresine kıyasla *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde BAX geninin ekspresyon düzeyi sırasıyla %1.14 oranında azalmıştır ($p= 0.0635$).

B. turcicus MeOH ekstresine kıyasla EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerine maruz bırakılmış tedavi grubu HUC-F hücrelerinde BCL-2 geninin mRNA seviyesindeki ekspresyonu sırasıyla %0.42, %0.32, %0.17 ve %0.053 oranında azalmıştır (sırasıyla $p= 0.5488$, $p= 0.8873$, $p= 0.6055$, $p= 0.6173$). Yine *B. turcicus* EA ekstresine kıyasla su, kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde ise BCL-2 geninin ekspresyon düzeyi sırasıyla %0.10, %0.32 ve %0.37 oranında artmıştır (sırasıyla, $p= 0.6601$, $p= 0.7378$, $p= 0.7233$). *B. turcicus* su ekstresine kıyasla kloroform ve *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde BCL-2 geninin ekspresyon düzeyi sırasıyla %0.21 ve %0.26 artmıştır ($p= 0.9113$, $p= 0.9083$). *B. turcicus* kloroform ekstresine kıyasla *n*-hekzan ekstresine maruz bırakılmış tedavi grubu hücrelerde BCL-2 geninin ekspresyon düzeyi sırasıyla %0.05 oranında artmıştır ($p= 0.9559$).



Şekil 4.52. *B. turcicus* ekstrelerinin, MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelerinin Kaspaz-3 enzim aktivitesi üzerindeki etkisini gösteren qRT-PCR verisi. *B. turcicus* ekstreleri ile tedavi edilmemiş hücreler kontrol olarak kullanılmıştır. *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının IC₅₀ dozu ile 24 saat tedavi edilmiş hücrelerde CASP-3, BAX ve BCL-2 genlerinin mRNA ekspresyon seviyesi qRT-PCR ile analiz edilmiştir. CASP-3, BAX ve BCL-2 geninin mRNA seviyesinde ekspresyonu, qRT-PCR kullanılarak tespit edilmiştir. Normalizasyon için GAPDH geni kullanılmıştır. qRT-PCR, üç bağımsız deneyden karşılaştırmalı $\Delta\Delta CT$ kullanılarak analiz edilmiştir. Veriler, $\Delta\Delta CT$ 'nin göreceli değişimi ve ortalama $\pm$ SS olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel analiz için One-ANOVA testi ve ardından Tukey testi kullanılmıştır. * $p < 0.05$, kontrolden (siyah) önemli ölçüde farklıdır. ** $p < 0.05$, MeOH'dan (koyu mavi) önemli ölçüde farklıdır. *** $p < 0.05$, EA'dan (kırmızı), önemli ölçüde farklıdır. # $p < 0.05$, Sudan (yeşil) önemli ölçüde farklıdır. ## $p < 0.05$, dan Kloroform (mor) önemli ölçüde farklıdır. MeOH: Metanol, EA: Etil asetat, IC₅₀: Yarı (%50) maksimum inhibisyon konsantrasyon değeri; qRT-PCR: kantitatif real-time PCR; CASP-3: Caspase-3; BAX: Bcl-2-associated X; BCL-2: B-cell lymphoma 2; GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; $\Delta\Delta CT$: CT yöntemi; SS: Standart sapma.

5. TARTIŞMA

Pankreas kanseri, genellikle belirtisiz seyreden ve genellikle ileri evrelerde teşhis konabilen, bu nedenle "sessiz katil" olarak tanımlanan agresif bir malign kanser türüdür (Kaur vd. 2013). Pankreas kanseri hücreleri, çeşitli genetik değişikliklerle apoptozdan kaçma eğilimindedir, bu da kemoterapi ve radyoterapi gibi sitotoksik geleneksel tedavilere karşı yeniden direnç mekanizmalarının geliştirilmesine yol açar. Ancak, son yıllarda metastatik pankreas kanseri tedavisindeki ilerlemenin sınırlı olduğu ve mevcut standart tedavilerin yeterince etkili olmadığı belirtilmektedir. Bu durum, yeni tedavi stratejileri ve terapötik ajanların tanımlanması gerekliliğini vurgular (Donald vd. 2012, Hafeez vd. 2012, Boreddy ve Srivastava 2013).

Bitkiler, tarih boyunca geleneksel tıp yöntemlerinde hastalıkların tedavisinde önemli bir rol oynamıştır. Antik Çin, Mısır, Yunan ve Roma uygarlıkları, bitkisel çözümleri sağlık sorunlarının üstesinden gelmede etkili bir şekilde kullanmışlardır. Son yıllarda, sentetik ilaçlara yönelik artan güvensizlik nedeniyle, bireyler bitkisel ilaçlara olan ilgilerini artırmışlardır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde, insanların %80'i bitkisel ilaçlarla tedavi edilmekte olup bu durum doğal kaynaklı bileşiklerin önemini vurgulamaktadır (Dash vd. 2005). Bitki ekstrelerinin, çeşitli hastalıkların tedavisinde potansiyel ilaçların keşfi konusunda önemli bir rol oynayabileceği bilinmektedir. Bu tedavi edici etkilerin, bitki ekstrelerinin zengin fitokimyasal içeriklerinden kaynaklandığı belirlenmiştir. Bitkilerde bulunan biyoaktif bileşenler, antioksidan, antienflamatuvar ve antimikrobiyal özelliklere sahip olabilir, bu da çeşitli sağlık sorunlarının tedavisinde etkili olmalarına olanak tanır. Geleneksel tıp yöntemlerindeki bitkisel tedaviler, modern tıp araştırmalarında da ilgi çekmektedir. Bitki kaynaklı ilaçlar, hücresel düzeydeki etkileşimleri düzenleyerek ve biyolojik süreçleri modifiye ederek hastalıkların semptomlarını hafifletebilir veya iyileştirebilir. Bu nedenle, bitki temelli tedavilerin, farmakolojik potansiyellerini değerlendirmek amacıyla daha fazla bilimsel araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Tıbbi ve aromatik bitkiler biyoaktif sekonder metabolitler olan steroidleri, flavonoidleri, saponinleri, alkaloidleri, terpenleri ve fenolik bileşikleri içermektedir. Bu sekonder metabolitler antimikrobiyal, antifungal, antialerjik, antidiyabetik, kardiyovasküler sistemi koruyucu, antioksidan, antikanser, antitiroit, antihistaminik, antimalaryal,

antihelmintik, antienflamatuvar, antihipertansif, spazm çözücü ve ağrı kesici özelliklere sahiptir (Aftab, 2019). Caryophyllaceae familyasına ait birçok tür, dünya genelinde birçok etnik topluluk tarafından geleneksel tıpta yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu familyaya etnofarmakolojik çalışmalar bitkilerin antibakteriyel, antiviral, antikanser, antifungal, antioksidan ve antienflamatuvar özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Caryophyllaceae bitkilerinin başlıca kimyasal bileşenleri saponinler, fitoekdisteroitler, benzenoitler, fenil propanoitler ve azot içeren bileşiklerdir. Familya bitkilerinin en önemli özelliği, çok sayıda antikanser aktivite sergilemesidir (Chandra ve Rawat, 2015). Familya bitkilerinin diüretik ve antiseptik (Al-Quran, 2008; Pullaiah, 2006; González-Tejero, 2008; Lakmichi vd. 2010), hepatoprotektif (Govind, 2011; Jeelani vd. 2013; Kültür, 2007), antienflamatuvar (Khare, 2008), antiromatik (Shinwari ve Khan, 2000; Hoffmann, 2003) etkilerini belirtmişlerdir. Gastrik rahatsızlıklar (Nabati vd. 2012), böbrek rahatsızlıkları (Ballabh vd. 2008, Vardhana, 2008) ve mesane/idrar yolu rahatsızlıkları (Kala, 2006), menstrüasyon bozuklukları ve safra kesesi rahatsızlıkları (Angmo vd. 2012; Ballabh ve Chaurasia, 2011), baş ağrısı, vücut ağrısı ve öksürük (Kumar ve Singhal, 2013), dermatolojik hastalıklar, iltihaplanma ve ülser (Lakmichi vd. 2010), diş eti enfeksiyonları, gastro-intestinal bozukluk (Chakravarty, 1988), yaralar, boğaz enfeksiyonu, kardiyotonik, diaforetik, aleksiterik ve vermifuj olarak (Mohammed ve Al-Bayati, 2009), cilt enfeksiyonu ve iltihabı, ateş ve herpesde (Wiart, 2012), gıda zehirlenmesi, ishal ve soğuk algınlığı (Angmo vd. 2012), akciğer hastalıkları, tifo, sarılık (Luo, vd. 2007), mide sorunları, zatüre ve sinüzit (Lepcha ve Das, 2011; Manandhar,1993), boğaz ağrısı (Moteetee ve Van Wyk, 2011; Guarrera ve Lucia, 2007), bronşit ve ağır öksürük (Mothana vd. 2009), kemik deformasyonları, sivilce, cilt hastalıkları, safra bozuklukları, zührevi ülserler, solunum sistemi hastalıkları ve idrar söktürücü (Korkmaz ve Özçelik, 2011; Khare, 2008), kesik ve iltihaplı yara (Govind, 2011; Jeelani vd. 2013; Kültür, 2007), sıtma ve mide ağrıları (Leto vd. 2013), uyuz tedavisi (Khare, 2008), pediatrik, geriatrik tonik olarak ve tüberküloz (Reinecke ve Zhao,1988; Wiart, 2012), iştah kaybı ve baş dönmesi (Lee vd. 2008), kemik ağrısı, kanama, kesik ve yara (Manandhar, 1993; Wiart, 2012), ağrı kesici (Khare, 2008), kızamıkta, (Majumdar ve Datta, 2007; Khare, 2008), romatizma (Korkmaz ve Özçelik, 2011; Khare, 2008; Luo, vd. 2007), göz, dizanteri, kalp hastalıkları, diyabet, böbrek taşları, katarakt, epilepsi, astım ve hipertansiyon (Chandra ve Rawat, 2015), damar sıkılaştırıcı, serinletici, yatıştırıcı, yumuşatıcı, yara iyileştirici, kaşıntıyı giderici, hafifletici ve sedef hastalığı, kırık kemik ve şişliklerin tedavisinde (Shinwari ve Khan, 2000; Hoffmann, 2003; Khare, 2008) kullanılır.

Bolanthus (Ser.) Reichb. cinsini içeren Caryophyllaceae familyası, fito-farmasötikler için biyolojik olarak aktif bileşiklerin doğal bir kaynağı olarak rapor edilmiştir (Zengin vd. 2018). Fenolik bileşikler, hidroksil ve peroksil radikallerini etkili bir şekilde temizleyen, metal bağlayıcılar olan ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) kaynağı olan Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarını durduran etkiye sahip güçlü antioksidanlardır (Bravo 1998). Fenolik bileşiklerin diyetle alınmasının, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve kansere karşı oksidatif stresin azaltılmasında ve korunmasında önemli bir rol oynadığı rapor edilmiştir (Hyun vd. 2016). Bu nedenle, çalışmamızda Caryophyllaceae familyası *Bolanthus* cinsi içerisinde bulunan *B. turcicus* türünden elde edilen farklı polaritedeki ekstrelerin, MIA PaCa-2 potansiyel antikanser etkileri araştırılmıştır.

Çalışmamızda, Türkiye'ye endemik olan *B. turcicus*, *B. confertifolius*, *B. minuartioides*, *B. thymoides*, *B. cherlerioides* ve *B. aziz-sancarii* olmak üzere altı *Bolanthus* taksonu üzerinde kök, gövde ve yaprak anatomileri ayrıntılı incelenerek benzerlik ve farklılıklar istatistiksel analizler ile ortaya konmuştur. *B. turcicus*'un total MeOH ekstresi ve total ekstreden hareketle sıvı-sıvı ekstraksiyonla kloroform, *n*-hekzan, etil asetat ve su fraksiyonları elde edilmiştir. Total Fenolik Madde (TPC) ve Toplam Flavonoit Madde (TFC) miktarı, ABTS, DPPH, FRAP gibi antioksidan kapasite ölçümleri yöntemi kullanılarak bitkisel ekstrelerin antioksidan kapasitesini araştırılmıştır. YPSK ve LC-MS-QTOF analizleri ile fitokimyasal içeriği ortaya konulmuştur. Bu tez kapsamında *B. turcicus* 'un farklı çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin pankreatik epitelyal kanser hücre hattı olan MIA PaCa-2 ve sağlıklı kontrol grubu olarak kullanılacak HUC-F fibroblast hücre hatları, *in vitro* model olarak seçilerek, üzerinde sitotoksik etkileri Mitokondriyal Dehidrogenaz Enzim Aktivitesi (MTT) Kolorimetrik Yöntemi kullanılarak, IC₅₀ değerleri belirlenmiştir. Potansiyel antikanser aktiviteye sahip olan *Bolanthus turcicus* Koç & Hamzaoglu bitki ekstresinin HUC-F ve MIA PaCa -2 hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisini doğrulamak amacıyla Scratch-yara iyileşme testi, hücre sağ kalımının ikili boyama (DAPI- F- ACTIN) ile analizi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra potansiyel antikanser aktiviteye sahip olan *B. turcicus* ekstresinin apoptozis ile ilişkili CASP-3, BAX ve BCL-2 genlerinin mRNA seviyesindeki ifadesi, Kantitatif Real-Time PCR (qRT-PCR) kullanılarak belirlenmiş, apoptotik aktivite florometrik Kaspaz 3 aktivasyonu olarak analiz edilmiş ve hücre içi düzeyleri immüno-florasans ile görüntülenerek incelenmiştir (Jiang vd. 2014; Zhu vd. 2015;

Lee vd. 2017).

Bolanthus cnsng üzernde yapılmış anatomik çalışmalara dgr elmgzde herhangi bgr bglg bulunmamaktadır. Ancak, bazı *Bolanthus* türlerngn *Gypsoph;la* cnsngne aktarıldığı bglgmektedir. *Gypsoph;la* cnsngde yapılan anatomik çalışmalara odaklandığımızda, Özdemir ve arkadaşları, Türkiye'ye özgü *Gypsoph;la lep;d;o;des* Bogss. türünün kök, gövde ve yapraklarının anatomik özelliklerng raporlamışlardır. Kökün, gkncl büyüme gösteren gk yıllık veya çok yıllık bgr yapıya sahip olduğu, dış yüzeyngn peridermal hücrelerle kaplı ve bu hücreler koyu renkl, ezgmlş ve bazen dökülmüş halde bulunduğunu belgtrmlşlerdir. Kök korteks tabakasının 3-10 tabakalı ve gçnde bgrçok druz krgstalgngn bulunduğu, floem ve ksglem elemanlarının belrggn bgr şekilde görülebldggng bldgrmlşlerdir. Gövde epidermis tabakasının gnce bgr kutkula tabakası ile kaplı olduğu, korteks, sklerankma halkası ve druz krgstaller gçerdgg belgtrmlştgr. Yaprak epidermisngn, palzat dokusu ve stomalar gçeren yapıyla dgkat çektg, salgı tüylerngn, tek hücreli veya çok hücreli olarak bulunduğu belgtrmlştgr (Özdemir vd. 2010). Ataşlar ve Ocak tarafından gerçekleştirilen çalışmada, Türkiye'ngn Eskişehir bölgesine endemik olan *Gypsoph;la osmangaz;ens;s* türünün anatomik özellikler gncelenmiştir. Btngn kökü çok yıllık ve gkncl büyüme gösteren bgr yapıya sahip olduğu, üst yüzey eksodermis ile kaplı ve kök korteksngn druz krgstal gçeren yoğun parankma hücrelerngn olduğu bldgrmlştgr. Gövde epidermisngn düz oval hücrelerden oluştuğu, korteks tabakasının, 5-7 tabakalı olduğu belgtrmlştgr. Floemng 5-6 tabakalı, ksglemng trakea ve trakeotlerden oluştuğu; trakele ng büyük orbküler hücrelerden oluştuğu ve trakeid hücrelerngn bgrçoğunun trakea hücrelernde bulunduğu bldgrmlştgr. Yaprakların, V şklnde ve epidermis gnce lateral duvarlı oval ve orbküler hücrelerden oluştuğu, kısmen druz krgstaller gçerdgg, yaprakta üç damarın bulunduğu, orta damar demet kılıfı ile çevrli ve alt kısmının parankmatik olduğu bldgrmlştgr (Ataşlar ve Ocak, 2017). Armağan tarafından *Gypsoph;la dav;s;;* Barkoudah üzernde yapılan çalışmada, btkngn gövde, kök ve yaprak anatomisng gncelenmiştir. Gövdeng gnce kutkül tabakası ve altında oval hücrelerden oluşan epidermis ile renkl sklerankma hücreler gçeren kortekse sahip olduğu belgtrmlştgr. Kökte, dışta 6-7 sıralı mantar tabakası ve altında korteks ile endodermis, gletgm demetlerngn merkez glngrde yer aldığı belgtrmlştgr. Yapraklar, oval-dgkdörtgen hücrelerden oluşan epidermis, 9-13 katmanlı hücrelerden oluşan mezofle ve parankmatik farklılaşma gçermeyen bgr yapıya sahip olduğu bldgrmlştgr. Damarların paralel bgr yapı gösterdgg, ancak bglngn aksine gncelenen örnekler ng kök ve gövdelernde hç bgr druz

krkstalgne rastlanmadığı tespgt edgımgstgr (Armağan ve Özgökçe, 2018). Aktürk ve Yılmaz'ın çalışmasına göre, *Gypsoph;la olymp;ca* türünün gövdesindeki 9-12 sıralı sklerankmatgk hücrelerden oluşan tabakanın kalın hücre duvarlarına sahip olduğu belgıtgımgstgr. Gövdengn epgdermgs hücrelergngn kalın bgr kutgkula gle çevrelenmgş, oblong yapıda ve druz krgstallerg gçerdgğg göstergımgstgr. Gövdengn yaprakları, özellikle üst epgdermgste büyük ve üçgen şekllg epgdermgs hücrelergne sahip olduğu ve gletgm demetg çevresinde druz krgstallergngn yoğunlaştığını bgldgrmgşlerdgr (Aktürk ve Yılmaz, 2021).

Bolanthus taksonlarının kök anatomgsg gncelendgğgnde, pergdermgs, korteks, ksglem ve floem olmak üzere dört temel kısımda gncelenmgstgr. Kesgtlergn dış kısmında bulunan kök koruyucu tabaka olan pergdermgs, dgkdörtgen şeklnde düzenlenmgş fellem hücrelerg gçermekte olup bazı bölgelerde parçalanmış, ezgımgş veya dökülmüş durumdadır. Pergdermgs tabakasından merkeze doğru uzanan korteks, düzenlg dgzlg, oval veya dgkdörtgen şekllg parankmatgk hücrelerden meydana gelgr. İletgm dokusunun kök engne kesgtlergnde gözlemlenen gletgm demetg sgstemg, floem ve ksglem olmak üzere gkg ana bgleşeng gçermektedir. Floem, küçük dgkdörtgen veya kare hücrelerden oluşurken, ksglem daha büyük yuvarlak hücrelerden meydana gelmektedir. Bu organgzasyon, bgtkngn besgn ve su taşımamı vergılg bgr şeklde sağlamaktadır. Bgtkngn kökünün engne kesgtnde prgmer sekonder kök yapısı gösteren taksonlarda ksglem elemanları, öz bölgesng tamamen kapladığı gçgn öz bölgesg ayırt edglememektedir. Bununla bgrlgkte, sekonder kök yapısı gösteren taksonlarda öz bölgesg mevcuttur. Kökte druz krgstallergne rastlanmamıştır.

Bolanthus taksonlarının gövde anatomgsg gncelendgğgnde, epgdermgs, korteks, sklerankgma, floem, ksglem ve öz olacak şeklde sıralanmıştır. Gövdengn engne kesgtlergnde, epgdermgs tabakasında bulunan hücrelergn tek sıralı, düzenlg, dgkdörtgengmsg ve ovale yakın bgr yapıya sahip olduğu gözlemlenmgstgr. Epgdermgsgn yüzeynde gnce dalgalı bgr kütgkula tabakası mevcuttur. Ayrıca, gövde epgdermgs tabakasından orgjgnlenen sık tüylerle kaplıdır; bu tüyler arasında çok sayıda örtü tüyü ve az sayıda salgı tüyü bulunmaktadır. Korteks tabakası, genellikle sgıngdgrgk şeklde düzenlenmgş parankmatgk hücrelerden oluşmaktadır. Korteksg takgp eden endoderms, tek sıralı, yuvarlak-dgkdörtgengmsg hücrelerden oluşup gçergsgnde druz krgstallerg bulunmaktadır. Sklerankgma tabakasında yer alan dışa doğru konumlanmış hücrelergn kalın çerperlg ve dar lümenlg olduğu gözlenmektedir. Merkeze doğru ggtgkçe sklerankgma hücrelergngn çerperlerg gncelmekte ve lümenlerg gengşlemektedir.

Gövdengn gç kısmında bulunan gletgm demetg sgstemg hem floem hem de ksglemg geçirmektedir. Gövdengn engne kesgtlergngn merkeznde gengş bgr öz bölgesg mevcuttur; burada büyük, şeffaf görünümlü ve yuvarlak öz hücrelerg bulunmaktadır. Öz bölgesgngn genellgkle boş olduğu gözlenmgştr. Bu yapısal özelliğler, bgtkgngn gövdesgndekg anatomgk düzenlemelerg açıklamakta ve bgtkgngn yaşamsal fonksyonlarını desteklemektedir.

Bolanthus taksonlarının yaprak anatomgsg gncelendgğgnde, engne kesgtlerde, üst ve alt yüzeyde tek sıralı, sıkı bgr dgzglgm göstermgş ve dgkdörtgen, kare ve ovale yakınlıkta hücrelerden oluşan epidermgs bulunmakta, bu gkg tabaka arasında mezofgl dokusu yer almaktadır. Üst ve alt epidermgs hücrelerg gnce bgr kutgkula tabakası gle örtülü ve yer yer stomalar gle kesgtgye uğramaktadır. Her gkg yüzeyde kütgköl kırışıklığı gözlenmgştr. Stomalar yaprağın her gkg yüzeynde bulunduğu gçgn yaprak amfgstomatgk tgptedir. Mezofgl dokusu ekvgfasgyal tgpte olup her gkg yönde palgzat parankgması ve bunların arasında yer alan sünger parankgmasından oluşmaktadır. Yapraklardan alınan engne kesgte çok sayıda örtü tüyü ve daha az salgı tüyü bulunmaktadır. Mezofgl tabakasının orta kısımlarında en büyüğü orta damar üzernde olmak üzere engne hat boyunca gletgm demetlerg bulunmaktadır. Orta damarda gletgm demetlerg oldukça büyük ve üzernde çok yer kaplayan sklerankgma kümesg yer almaktadır. İletgm demetlerg kollateral tgptedir. Ksglem, floem ve sklerankgma hücrelergnden oluşmuş ve etrafı tek sıralı demet kını hücrelergyle çevrenmgş bgr yapı sergilemektedir. Kollateral gletgm demetlergngn yer aldığı orta damarda ksglem, hemen altında, küçük, gnce çeperlg, düzensgz dgzglgşlg hücrelerden oluşan floem yer almaktadır. Floemg oldukça gengş bgr yer kaplayan floem sklerankgması hglal şeklgnde kuşatmıştır. Sklerankgma kümesgngn üzerinde dgzglmgş druz krgstallerg yer almaktadır. Yaprak orta damarında yoğun druz krgstallergne rastlanmıştır.

Bu çalışmada, *B. turc;cus* ekstrelergngn toplam fenolgk madde gçergğg, Sngleton ve ark. (1999) tarafından önerilen Folgn-Cgocalteu yöntemg kullanılarak belgrlenmgştr. Metanol, *n*-hekzan, kloroform, etgl asetat ve sulu ekstreler gçgn elde edglen toplam fenolgk madde gçergğg (TPC) değlerlerg sırasıyla şu şeklgdedgr: 77,79 mg GAE/g, 27,91 mg GAE/g, 47,76 mg GAE/g, 75,50 mg GAE/g ve 49,11 mg GAE/g. Caryophyllaceae famglyasının genelde yüksek fenolgk gçergğge sahgı olduğu bglgnmektedir (Zheleva-Dgmgtrova vd. 2018). Lgteratürde *B. turc;cus*'un TPC değlerlerg gle glgglg bglgg bulunmamaktadır. Toplam flavonogt gçergğg (TFC) Alümgnyum klorür yöntemg kullanılarak belgrlenmgştr (Zhngsen vd. 1999).

Metanol, *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve sulu ekstraler gçgn elde edglen TFC değerglerg sırasıyla şu şekgldedgr: 68,91 mg QE/g, 20,39 mg QE/g, 32,01 mg QE/g, 64,29 mg QE/g ve 51,55 mg QE/g. Bu çalışmayla, *B. turc;cus*'un hem TPC hem de TFC değerglergng glk defa ortaya konulmaktadır. Bu bulgular, bgtkgngn farklı çözücölere karşı farklı fenolgk ve flavonogt madde profgllegne sahgp olduğunu göstermektedr. Ayrıca *B. turc;cus*' un bgyoaktgf bgleşenlerg açısından zenggn olduğunu, potansgyel olarak çeşgtlg sağlık yararlarına sahgp olabgleceğng ve metanol, etil asetat ve sulu ekstralerngn kloroform ve *n*-hekzan ekstralerne göre, *B. turc;cus* gçgn daha gyg bgr çözücü olduğunu göstermektedr. Bu analgz, bgtkgngn bgyolojgk aktgvgtelerg üzergndekg potansgyel etkglerng değerglendrgmek gçgn önemlg bgr verg sağlamaktadır.

Farklı bir çalışmada *B. spergulifolius*'un metanol, etil asetat ve sulu ekstralerinin TPC değergleri sırasıyla 48.22 mg GAE/g, 52.81 mg GAE/g ve 30.34 mg GAE/g olarak belirlenmiştir. *B. spergulifolius* ekstralerinin önemli bir fenolik içeriğe sahip olduğunu ve metanol ile etil asetat' ın *B. spergulifolius* için daha etkili çözücü olduğunu göstermişlerdir (Derici vd. 2021). Sönmez'in çalışmasında *B. ortegioides*'in metanol ekstresinin toplam fenolik içeriğinin (TPC) 5.6 ± 0.25 µg (galik asit eşdeğeri (GAE)/mg seviyesinde olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda, *B. turcicus* fenolik madde içeriği (TPC) değergleri metanol ve etil asetat ekstralerinde sırasıyla 77,79 mg GAE/g ve 75,50 mg GAE/g şeklinde bulunmuştur. Sonuçlar yapılan diğer çalışmalar ile benzerlik göstermekte metanol ve etil asetatın daha etkili bir çözücü olduğunu ortaya koymaktadır.

Antioksidan aktivite tayini için *B. turcicus* metanol, etil asetat, kloroform, *n*-hekzan ve su ekstresinin DPPH, ABTS ve FRAP serbest radikallerini temizleme yeteneklerini inceleyerek, ekstraler için DPPH ve ABTS IC₅₀ değergleri, FRAP için trolox eşdeğeri/g olarak belirlenmiş ve antioksidan yeteneklerini karşılaştırılmıştır. ABTS serbest radikalini süpürücü etkileri değerglendirilmiş ve aktif ekstraler için IC₅₀ değergleri hesaplanmış, aktivite sıralaması, metanol> etil asetat> su> kloroform> *n*-hekzan olarak tespit edilmiştir. En yüksek ABTS serbest radikalini süpürücü etkiyi IC₅₀=67,4 µg/mL değeri ile *B. turcicus* metanol ekstresi göstermiştir. Pozitif kontrol olarak troloks kullanılmış, IC₅₀=17,9 µg/mL değeri ile troloks bütün ekstralerden daha etkili bulunmuştur. Troloksun, en yüksek aktiviteyi gösteren *B. turcicus* metanol ekstresinden yaklaşık 4 kat daha etkili olduğu görülmüş, ekstraler ile pozitif kontrol arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık

gözlenmiştir ($p<0.05$). DPPH serbest radikalini süpürücü etkileri değerlendirilmiş ve aktif ekstreler için IC_{50} değerleri hesaplanmış, aktivite sıralaması, metanol> etil asetat> su> kloroform> *n*-hekzan olarak bulunmuştur. En yüksek DPPH serbest radikalini süpürücü etkiyi $IC_{50}=101,1 \mu\text{g/mL}$ değeri ile *B. turcicus* metanol ekstresi göstermiştir. Pozitif kontrol olarak BHT kullanılmıştır, $IC_{50}=11,01 \mu\text{g/mL}$ değeri ile BHT bütün ekstrelerden daha etkili bulunmuştur. BHT'nin, en yüksek aktiviteyi gösteren *B. turcicus* metanol ekstresinden yaklaşık 9 kat daha etkili olduğu görülmüş, ekstreler ile pozitif kontrol arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p<0.05$). FRAP serbest radikalini süpürücü etkileri değerlendirilmiş, aktif ekstreler için trolox eşdeğeri/g değerleri hesaplanmış, aktivite sıralaması bitki için, metanol> etil asetat> su> kloroform> *n*-hekzan şeklinde gözlenmiştir. En yüksek FRAP serbest radikalini süpürücü etkiyi 294,88 TE/g değeri ile *B. turcicus* metanol ekstresi göstermiştir. Veriler kendi aralarında kıyaslandığında benzer antioksidan aktiviteye sahip oldukları saptanmıştır. *B. turcicus* antioksidan aktivitesi ise ilk kez tez çalışmamız kapsamında araştırılmıştır.

Can Ağca ve arkadaşları, *B. aziz-sancarii*'nin metanollü ekstresinin antioksidan özellikleri üzerine yapılan çalışmada, çeşitli fraksiyonların DPPH ve ABTS serbest radikal temizleme yetenekleri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlarda fraksiyonlar arasında antioksidan etki açısından önemli farklılıklar görüldüğü tespit edilmiştir. DPPH serbest radikal temizleme aktivitesi açısından, etil asetat, kloroform ve sulu fraksiyonların, kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde yüksek aktivite gösterdiğini vurgulanmıştır ($p<0.05$). Özellikle, *B. aziz-sancarii*'nin etil asetat fraksiyonu, DPPH serbest radikallerini temizleme konusunda en yüksek IC_{50} değerine sahip olduğunu belirlenmiştir. *B. aziz-sancarii*'nin aktivitesi etil asetat (0,0743 mg/ml)> su (0,1488 mg/ml)> kloroform (1,0185)> *n*-hekzan (etkisiz) şeklinde sıralandığı tespit edilmiştir. Ancak, hiçbir fraksiyonun, pozitif kontrol olan BHT'nin (0,01101 mg/ml) etkinliği kadar yüksek olmadığı vurgulanmıştır. ABTS serbest radikal temizleme aktivitesi açısından da etil asetat, kloroform ve su fraksiyonlarının, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek aktivite gösterdiğini belirtilmiştir ($p<0.05$). *B. aziz-sancarii*'nin etil asetat fraksiyonu, ABTS serbest radikallerini temizleme etkisi açısından değerlendirildiğinde en yüksek IC_{50} değerine sahip ekstre olarak belirlenmiştir. *B. aziz-sancarii*'nin aktivitesi etil asetat (0,0583 mg/ml)> su (0,1285 mg/ml)> kloroform (0,5780 mg/ml)> *n*-hekzan (etkisiz) olarak sıralandığı tespit edilmiştir. Ancak, hiçbir fazın, pozitif kontrol olan Troloks'un (0,00179 mg/ml) etkinliği kadar yüksek olmadığı

belirtilmiştir (Can Ağca vd. 2023). Bu araştırma sonuçlarına göre, *B. aziz-sancarii*'nin antioksidan aktivitesi etil asetat fraksiyonunda daha etkili bulunmuştur. Daha önceki çalışmalara benzer şekilde, *B. turcicus* 'un antioksidan özellikleri ilk kez bu çalışma ile gerçekleştirilmiştir. En yüksek ABTS ve DPPH serbest radikali süpürücü etkiyi *B. turcicus* metanol ekstresi daha sonra etil asetat fraksiyonu göstermiştir. Her iki tür arasındaki benzer aktivite sıralamaları, aynı familyadan gelmelerine ve benzer habitatlarda yetişmelerine bağlı olabilir. Ancak, daha fazla araştırma ve karşılaştırmaya ihtiyaç vardır, çünkü farklı bitki türleri arasında antioksidan aktivitelerin belirlenmesi genellikle bitki özelliklerine, coğrafi konumlarına ve yetiştirme koşullarına bağlı olarak değişebilir. Bu bulgular, *B. turcicus* ' un antioksidan potansiyelinin anlaşılması açısından önemli bir katkı sağlamaktadır.

Çeşitli çalışmalarda, bitki ekstraktlarının sentetik bileşiklere göre daha güçlü antikanser etkiler sergilediği ifade edilmiş olmasına rağmen, hangi bileşiklerin kanser hücreleri üzerinde etkili olduğunu belirlemek veya bu etkinin bitki sekonder metabolitlerinin sinerjik etkisinden kaynaklanıp kaynaklanmadığını anlamak zorlu bir süreçtir. Ancak günümüzde, kanser ilaçlarının %60'ından fazlasının doğal bileşiklerden üretildiği göz önüne alındığında, bitki sekonder metabolitleri kanser tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır (Carocho ve Ferreira, 2013; Sharangi, 2017). Fenolik bileşikler, kemopreventif ve kemoterapötik etkinlik açısından en fazla çalışılan sekonder bileşiklerden biridir ve güncel araştırmalar, çeşitli alt gruplardan gelen fenolik bileşiklerin farklı kanser hücrelerinin proliferasyonunu önemli ölçüde engellediğini göstermektedir (Jafari vd. 2014). Apigenin'in Hsp90/Cdc37 etkileşimini doğrudan bloke ettiği, immünpresipitasyon kullanılarak pankreas kanseri hücre hattı MIA PaCa-2'de doğrulandığı belirtilmiştir. Apigenin, Hsp90/Cdc37'nin yapısal spesifik bir inhibitörü olarak çalışmaktadır. Hsp90/Cdc37 etkileşimini doğrudan engeller ve pankreas kanseri hücrelerinde aşağı akış kinaz istemci proteini bozunmasına neden olarak hücre içi ROS birikimini indüklemektedir. Bu da pankreas kanseri hücrelerinin proliferasyonunu ve göçünü inhibe ederek antikarsinojenik etki göstermektedir (He vd. 2015). Apigenin'in gempitabin ile kombinasyon halinde hem S hem de G2/M faz arrestine ve artmış apoptoza neden olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, apigenin, gempitabin dirençli AsPC-1 hücrelerinde doza bağlı olarak hücre proliferasyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği görülmüştür (Strouch vd. 2009). Kersetin'in *in vitro* ve *in vivo* pankreas kanseri hücrelerinin büyümesini etkili bir şekilde inhibe ettiği, düşük toksisite profiline sahip olduğu ve çeşitli kanser modellerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Angst vd. 2013). Kersetin'in pankreas,

kolorektal, prostat, akciğer, yumurtalık, nazofarengeal, meme ve böbrek kanserlerine karşı inhibitör etkilerini gösteren bir dizi çalışma yapılmıştır (Li vd. 2018; Liu vd. 2017). Liu ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, kersetin'in gemsitabine dirençli kanser hücrelerinde antikanser etkilerini ve mekanizmalarını incelemişlerdir. Bu çalışmada, kersetin'in GMC'ye dirençli hücre hatları üzerinde sitotoksik etkileri olduğu ve akış sitometrik analiz bu hücre hatları üzerinde proapoptotik etki gösterdiği belirtilmiştir. Apigenin ve gemsitabin ile kombinasyon tedavisinin MIA PaCa-2, AsPC-3 ve CD18 pankreas kanseri hücrelerinde *in vitro* olarak anti-proliferasyonu artırdığı ve MIA PaCa-2 xenograft modelinde tümör büyümesini azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca, apigenin ve luteolin'in kemoterapötik ilaçlar 5-FU, gemsitabin, sisplatin ve oksaliplatin'in BxPC-3 insan pankreas kanseri hücre büyümesi inhibitör etkilerini güçlendirdiği belirlenmiştir (Johnson ve de Mejia, 2013). Kemferol'ün pankreas kanseri hücre büyümesini etkili bir şekilde inhibe ettiği ve konsantrasyona bağlı bir şekilde *in vitro* hücre apoptozunu indüklediği belirlenmiştir. Ayrıca, kemferol'ün en yaygın kullanılan kemoterapi ajanı 5-FU ile ilave bir etki gösterdiği ve 5-FU'dan daha az sitotoksositeye sahip olduğu bildirilmiştir (Lee ve Kim, 2016). Sonuç olarak, bitki sekonder bileşikler çeşitli mekanizmalarla antikarsinojenik etki göstermektedir. Bu etkiler arasında, DNA'ya karsinojen bağlanmasını inhibe ederek, oksidatif DNA hasarına karşı koruma sağlayarak, hücre sinyallemesini normalize ederek malign dönüşümü inhibe etme ve kanser hücresinin büyümesini ve metastatik potansiyelini engelleme bulunmaktadır (Korkina ve Kostyuk, 2012). Bu bulgular, bitki sekonder bileşiklerinin kanser tedavisinde potansiyel bir strateji olarak düşünülmesini desteklemektedir. Sonuç olarak, doğal bileşenlerin pankreas kanseri tedavisindeki potansiyelinin klinik çalışmalarda doğrulanması ve güvenilir bir tedavi stratejisi olarak benimsenmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Bu bileşenlerin tek başına veya kombinasyon halinde kullanılması, gelecekteki kanser tedavilerinde alternatif ve yardımcı seçenekler oluşturmaktadır.

Bitki ekstraktlarının kimyasal bileşenlerini belirlemek ve tanımlamak amacıyla yürütülen araştırmalar, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (YPSK) ve kütle spektrometrisi (LC- MS Q-TOF) tekniklerinin kullanımını içermektedir. Bu çalışma, pozitif ve negatif iyonlaşma modlarında gerçekleştirilen analiz sonuçlarının, literatürle uyumlu bileşiklere işaret ettiğini göstermektedir. Laboratuvar içinde bulunan referans maddelerle gerçekleştirilen tanımlama işlemlerinin yanı sıra, elde edilen kütle spektrumları farklı veri tabanlarında değerlendirilmiştir. Analiz aşamalarında, sinyal şiddeti en yüksek olan ve

numune içerisinde major bileşikler olarak belirlenen kütle spektrumları üzerinde odaklanılmıştır. Klorojenik asit, protokateşik asit, luteolin, 2-OH sinnamik asit, apigenin-7 glukozit, rutin, rosmarinik asit, elajik asit, viteksin, naringin, kemferol, kersetin, izoorientin, luteolin 7-glukozit, apigenin 7-glukozit, viteksin-2'-*O*-ramnozit, ferulik asit, stearik asit, p-kumarik asit, siringik asit, vanilik asit, kafeik asit, gallik asit, trans-ferulik asit, apigenin, 2-OH sinnamik asit ve 4-OH benzoik asit olmak üzere 26 tane standart madde *B. turcicus* bitki ekstraları içerisinde araştırılmıştır. Gallik asit, vanilik asit, kafeik asit, elajik asit, stearik asit, trans-ferulik asit ve 2-OH sinnamik asit tespit edilemezken, diğer standart maddeler LC-MS Q-TOF ile başarıyla belirlenmiştir. Aynı zamanda YPSK kullanılarak izoorientin miktar tayini gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma, bitki ekstralarındaki bileşenlerin tanımlanması ve miktar tayini konusunda YPSK ve LC-MS Q-TOF tekniklerinin etkili bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir. Elde edilen sonuçlar, gelecekteki çalışmalar için temel oluşturarak, yeni bileşiklerin izolasyonu ve yapısal analizi için MS ve NMR gibi tekniklerin kullanılmasını önermektedir.

Can Ağca ve arkadaşlarının yaptığı araştırmada, *B. aziz-sancar*; bgtkg ekstresgngn metanol ekstresg üzergnde gerçekleştirglen fgtokgmyasal gnceleme, önemlg bgleşgklergngzasyonunu ortaya koymuştur. Bu çalışma, bgtkgngn etgl asetat fraksyionundan elde edglen ekstrengn gçerdgğg bgleşgklerg detaylı bgr şeklgde belgrlemgş ve gzole etmgştgr. *B. aziz-sancar*; metanol ekstresgngn etgl asetat fraksyionundan kersetgn-3-*O*-(6''-*O*-E-ferulogl-β-glukopgranozgt, kersetgn-3-*O*-(6''-*O*-E-sgnapgl-β-glukopgranozgt, 3-metgl-5-[6-(hgdroksmetgl)-(2,6-dgmetgl)-3-oksgsgkloheks-2-engl]-pent-2-enogk asgt-15-*O*-β-glukozgt, apggengn, kemferol, kersetgn-3-*O*-α-ramnozgl (1'''→6'')-glukopgranozgt, kersetgn-3-*O*-β-glukopgranozgt, kemferol-3-*O*-α-ramnozgl (1'''→6'')-glukopgranozgt, kemferol-3-*O*-β-glukopgranozgt, gzoorgentgn gzole edglmgştgr (Can Ağca vd. 2023). Bu bulgular, bgzgm çalışmamız gle uyumlu olup, *B. aziz-sancar*; ve *B. turcicus* bgtkglergngn fgtokgmyasal gçergğg konusunda benzer sonuçları desteklemektedir. Özellikle, apggengn, kemferol ve gzoorgentgn ggbg bgleşgklergngn benzer şeklgde her gkg bgtkg türünde de tespgt edglmesg, bu bgleşgklergngn bgtkgler arasında konservatgf olarak bulunan önemlg metabolgtler olduğunu göstermektedir. Bu çalışma, bgtkg ekstralernde kg belgrlg bgleşgklergngzasyonu ve tanımlanması açısından önemlg bgr adımı temsgl etmektedir. Elde edglen bglggler, bgtkg kaynaklı bgleşgklergngn potansgyel bgyolojkg aktgvgtelergng anlamak ve glaç gelgştgrme süreçlergnde kullanılacak yeng hedeflergngn belgrlenmesgne katkı sağlamak gçgngn kullanılablggr. Ayrıca, bu çalışma, bgtkglergngn kgmyasal

bgleşenlergngn bgyoçşgtlglgğgng anlamak ve doğal ürünlergn farmakolojgk değergng artırmak açısından gengş bgr öneme sahgptgr.

B. turcicus MeOH (metanol), Su, EA (etil asetat), Kloroform ve *n*-hekzan ekstrlerinin farklı konsantrasyonlarının pankreas kanser (250-1250 µg/mL) ve fibroblast hücreleri (500-2000 µg/mL) üzerindeki sitotoksik etkisini değerlendirmek ve ileri çalışmalarda kullanılacak IC₅₀ dozlarını seçmek için MTT yöntemi uygulanmıştır (Van de Loosdrecht vd. 1994; Fujita et al. 2017). MIA PaCa-2 hücrelerinde 24 saat *B. turcicus* ekstrlerinin her biri için artan konsantrasyondaki maruziyet genel olarak hücre canlılığını azalttığı tespit edilmiştir. Kontrole kıyasla *B. turcicus* MeOH, EA, su için ≥250 µg/mL, kloroform için ≥750 µg/mL ve *n*-hekzan ekstresi için ≥1000 µg/mL konsantrasyonlarına maruz kalan MIA PaCa-2 hücre canlılığı belirgin bir şekilde azalmıştır. *B. turcicus* MeOH, EA, su için sırasıyla <250 µg/mL ve kloroform, *n*-hekzan için <1000 µg/mL konsantrasyonlarına maruz kalan hücrelerde %90 ve üzerinde hücre canlılığı korunmuştur. MIA PaCa-2 hücrelerinde *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan, ekstrleri için sırasıyla 90.4 ± 4.14 µg/mL, 721.7 ± 100.01 µg/mL, 779.4 ± 93.08 µg/mL, 912.8 ± 20.06 µg/mL ve 929.4 ± 35.06 µg/mL olan IC₅₀ değerleri ekstrlerin potansiyel sitotoksitesini belirlemek için kullanılmıştır. Bu dozlar, ekstrlerin MIA PaCa-2 potansiyel antikanser etkilerini araştırmak için daha fazla uygulamada kullanılmıştır. MTT verilerimiz, *B. turcicus* MeOH ekstresinin, EA, Su, Kloroform ve *n*-hekzan ekstrlerine göre daha yüksek sitotoksik potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. HUC-F hücrelerinde 24 saat *B. turcicus* ekstrlerinin her biri için artan konsantrasyondaki maruziyetin genel olarak hücre canlılığı azalttığı tespit edilmiştir. Kontrole kıyasla *B. turcicus* MeOH ≥2000 µg/mL, EA ≥500 µg/mL, su ≥1500 µg/mL, kloroform için ≥500 µg/mL ve *n*-hekzan ekstresi için ≥500 µg/mL, konsantrasyonlarına maruz kalan HUC-F hücre canlılığı belirgin bir şekilde azalmıştır. *B. turcicus* MeOH, su için <2000 µg/mL, EA<1000 µg/mL, kloroform için <750 µg/mL, *n*-hekzan için <500 µg/mL, konsantrasyonlarına maruz kalan hücrelerde %90 ve üzerinde hücre canlılığı korunmuştur. HUC-F hücrelerinde *B. turcicus* MeOH, su, EA, kloroform ve *n*-hekzan ekstrleri için IC₅₀ konsantrasyonu sırasıyla, 2915 ± 121.32 µg/mL, 2907 ± 80.27 µg/mL, 3042 ± 118.19 µg/mL, 2834 ± 142.03 µg/mL ve 2727 ± 189.41 µg/mL olarak gözlenmiştir. Bu sonuçlar, incelenen *B. turcicus* ekstrlerinin potansiyel sitotoksik ajanlar olduğunu doğrulamaktadır.

Çalışmamızda, *B. turcicus* bitkisinin ekstrelerinin MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelerinin morfolojisi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. İki farklı hücre kültürü ortamında yapılan deneylerde, bitkinin farklı ekstreleri kullanılarak hücrelerin tepkisi incelenmiştir. Literatürle uyumlu olarak inverted-faz kontrast altında ve F-Aktin immunofloresan MIA PaCa-2 hücreleri, kontrol grubunda genellikle iğ şeklinde ve bazen yuvarlak, süpernatantda yüzen küresel hücre morfolojisi sergilemiştir (Sasaki, vd. 2020). Ancak *B. turcicus* ekstrelerine maruz bırakılan tedavi gruplarında, MeOH> EA> su> kloroform> *n*-hekzan sırasında genel olarak hücre yoğunluğu ve iğsi yüzeye tutunan hücre sayısında azalma gözlenmiştir. Bu durum, bitki ekstrelerinin, özellikle IC₅₀ dozunda uygulandığında MIA PaCa-2 hücrelerinin morfolojisini etkilediğini göstermektedir. Ayrıca, tedavi grubunda apoptozun belirgin morfolojik özellikleri olan hücre zarlarında vakuolizasyon, hücre çapında küçülme ve süpernatantta yüzen küresel hücreler belirgin bir şekilde gözlenmiştir (Wang vd. 2019). Bu durum, *B. turcicus* ekstrelerinin pankreas kanser hücrelerinde apoptozu tetikleyebileceğini ve hücre ölümünü uyardığını düşündürmektedir. F-Aktin immunofloresan boyama sonuçlarına göre, kontrol grubundaki MIA PaCa-2 hücrelerinde sitoplazmadaki mikrotübüllerin düzenli dağılımı ve çekirdekten çevreye doğru radyal düzenlenmiş floresan patern gözlemlenirken, *B. turcicus* ekstreleri uygulanan tedavi gruplarında, MeOH> EA> su> kloroform> *n*-hekzan sırasında hücre küçülme, mikrotübül sayısında azalma, apoptoz belirtileri olan floresans dağılımının kümeleşmesi ve çekirdeğe doğru büzülme gözlenmiştir. Bu durum, bitki ekstrelerinin hücre sitoskeletonunu etkileyerek hücre içi yapıların bozulmasına neden olabileceğini göstermektedir. HUC-F hücreleri üzerinde yapılan deneylerde ise, kontrol ve tedavi grupları arasında benzer olarak iğ şeklindeki tipik fibroblast morfolojinin korunduğu gözlenmiştir. HUC-F hücreleri üzerinde yapılan deneylerde ise, kontrol ve tedavi grupları arasında belirgin bir morfolojik farklılık gözlenmemesi, bu hücre tipinin *B. turcicus* ekstrelerine daha az duyarlı olduğunu düşündürülebilir. Sonuç olarak, bu çalışma, *B. turcicus* bitkisinin ekstrelerini özellikle MIA PaCa-2 pankreas kanser hücreleri üzerinde belirgin morfolojik değişikliklere neden olarak hücre yoğunluğunu azaltma ve potansiyel bir apoptotik etki sergileyebileceğini göstermektedir. Ancak, bu sonuçların daha geniş kapsamlı çalışmalarla desteklenmesi ve bitkinin etkilerinin daha derinlemesine anlaşılması önemlidir.

Çalışmamızda, *B. turcicus* bitkisinin farklı ekstrelerinin MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelerinin apoptotik nükleer morfolojisi üzerindeki etkileri, immunofloresan boyama

yöntemleri kullanılarak detaylı bir şekilde incelenmiştir. (Predebon vd. 2019). MeOH, EA, Su, kloroform ve *n*-hekzan ekstreleri, özellikle MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelerinde apoptozun belirgin göstergelerini tetiklediği görülmüştür. MIA PaCa-2 hücrelerinde yapılan incelemelerde, *B. turcicus* ekstreleri ile muamele edilen gruplarda apoptotik nükleer morfolojik değişiklikler gözlenmiştir. DAPI ile yapılan boyama sonuçları, MeOH> EA> su> kloroform> *n*-hekzan sırasında parçalanmış nükleer cisimlerin belirgin şekilde arttığını ve güçlü noktalı DAPI boyaması ile floresan yoğunluğunun apoptozla ilişkilendiği belirlenmiştir. Bu değişiklikler, bitkinin pankreas kanser hücrelerinde apoptotik yolları etkileyebileceği göstermiştir. Benzer şekilde, HUC-F hücrelerinde yapılan incelemelerde de kontrol gruplarına kıyasla DAPI ile yapılan boyama sonuçlarında, *B. turcicus* ekstreleri ile tedavi edilen gruplarda sırasıyla MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarında apoptotik nükleer morfolojik değişiklikler ve güçlü DAPI boyanması gözlenmiştir. Bu durum, bitkinin farklı ekstrelerinin hem kanser hücrelerinde hem de normal hücrelerde benzer apoptotik etkileri tetikleyebileceğini göstermektedir. *B. turcicus*'un MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerinin sırasıyla DAPI ile boyanmış apoptotik MIA PaCa-2 hücrelerinin oranını %903.33, %745.06, %663.06, %546.67 ve %375.46 oranında arttırdığı gözlenmiştir. Ayrıca MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının sırasıyla DAPI ile boyanmış apoptotik HUC-F hücrelerinin oranı %380, %255, %186.6, %96.6.06 ve %48.33 oranında arttırmıştır. Bu sonuçlar, *B. turcicus* bitkisinin farklı ekstrelerinin hücre tipine ve nükleer morfolojiye göre değişen apoptotik etkiler gösterebileceğini ve bu etkilerin bitkinin biyolojik aktivitelerini anlamak için daha detaylı bir şekilde incelenmesi gerektiğini vurgulamaktadır. Bu çalışma, bitki ekstrelerinin hücre düzeyindeki etkilerini değerlendirmek ve potansiyel terapötik kullanımları üzerinde önemli bilgiler sağlamaktadır.

B. spargulifolius'un olgun adipositler üzerindeki etkisini inceleyen bir araştırmada, faz kontrast, taramalı elektron mikroskopu (SEM), immünofloresan ve Giemsa boyama yöntemleri kullanılarak bir değerlendirme gerçekleştirilmiştir. *Bolanthus spargulifolius*'un metanol (MeOH), etil asetat (EA) ve sulu ekstrelerinin, olgun adipositlerin hücre morfolojisi ve hücre çapı üzerinde olumsuz bir etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu etkinin MeOH, EA ve sulu ekstraktlarının sırasıyla %41.10, %51.74 ve %30.65 oranında hücre çapını baskıladığı bildirilmiştir. Bulgular, *B. spargulifolius*' un olgun adipositlerde lipid birikimini azaltarak hücre çapını düşürmeye ve fibroblastik morfoloji kazandırmaya yönelik potansiyel bir katkı sağlayabileceğini vurgulamıştır. Özellikle MeOH ve etil asetat ekstrelerinin daha etkili

olduğu belirtilmiştir (Derici vd. 2021). Bu bağlamda, *Bolanthus*'un farklı bir türü olan *B. turcicus* bitkisinin MIA PaCa-2 ve HUC-F hücreleri üzerindeki morfolojisi ve apoptotik nükleer morfolojisi etkileri tarafımızdan incelenmiştir. İnverted-faz kontrast, F-Aktin ve DAPI immunofloresans boyama yöntemleri kullanılarak gerçekleştirdiğimiz çalışmada, MeOH ve etil asetat ekstraktlarının daha etkili bir çözücü olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, *B. turcicus*'un hücresel düzeydeki etkilerinin çözücü seçimine bağlı olarak değişebileceğini ortaya koymaktadır.

Yeni terapötik ajanların yara iyileştirme özelliklerini değerlendirmek için *in-vitro* ve *in-vivo* modeller bulunmaktadır. Bu modeller arasında çizik (scratch) testi, hücre göçü ve yara iyileşme etkinliğinin ilk kanıtlarını sağlayan pratik, ekonomik ve iyi kurgulanmış bir *in-vitro* modeldir. Hücre proliferasyonu ve migrasyonu, yara iyileşme sürecinin temel bileşenleridir. Çizik testinde, *in-vitro* olarak çizikler oluşturulur, bu da tek tabakalı hücre tabakasının bozulmasına ve hücre-hücre temasının kaybına neden olur. Zaman içinde yara bölgesinde çeşitli faktörlerin indüksiyonu ile hücre migrasyonu ve proliferasyonu artar (Hulkower ve Herber, 2011; Valid vd. 2020). *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının pankreas kanser hücre migrasyonu ve yara kapama kapasitesi üzerindeki potansiyel etkisini araştırmak için scratch testi uygulanmıştır (Liang vd. 2007).

B. turcicus pankreas kanser hücrelerinin yara kapanma kapasitesi üzerindeki etkisini değerlendirmek için *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının IC₅₀ dozuna 24 saat maruz bırakılan MIA PaCa-2 ve HUC-F hücreleri ise tedavi grubu olarak çalışılmıştır. Açılan scratch yara, mikroskop altında hücre migrasyonu ve yara kapanma, hücrelerde 0, 24, 48 ve 72 saat boyunca tarafımızca görüntülendi. Yara kapanma yüzdesi yara kapanma sonuçları % olarak verilmiştir (Suarez-Arnedo vd. 2020). Kontrol hücrelerine kıyasla *B. turcicus* ekstraktlarına maruz bırakılmış MIA PaCa-2 hücrelerinde özellikle 24. saatten sonra belirgin morfolojik değişiklikler, geniş yara alanı ile göç hızında azalma gözlenmiştir. Çizik yara kapanma analizine göre, kontrol grubuna kıyasla *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktları uygulanmış tedavi grubu MIA PaCa-2 hücrelerinde, 24. saatte göç mesafesi sırasıyla, %98.09, %80.0, %75.77, %51.53, %17 azalmıştır. Tedavi grubu MIA PaCa-2 hücrelerinde 48. saatte göç mesafesi sırasıyla, %86.41, %80.76, %73.59, %56.60, %40.18 azalırken tedavi grubu MIA PaCa-2 hücrelerinde 72. saatte ise göç mesafesi sırasıyla, %85.19, %79.93, %72.48, %53.44,

%41.96 oranında azalmıştır. Çizik yara kapanma analizine göre MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstreleri uygulanan tedavi grubunda 24. saatte göç mesafesinde önemli bir azalma gözlenmiştir. Bu azalma 48. ve 72. saatte de devam ettiği tespit edilmiştir. HUC-F hücreleri üzerinde yapılan deneylerde de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Kontrol hücrelerine kıyasla *B. turcicus* ekstrelerine maruz bırakılmış HUC-F hücrelerinde yara kapanma önemli ölçüde gecikmiştir. Çizik yara kapanma analizine göre MeOH ve EA için göç mesafesi azalırken, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstreleri için artış gözlenmiştir. Bu etkiler, 48. ve 72. saatlerde de devam etmiştir. Çizik yara kapanma analizine göre, kontrol grubuna kıyasla *B. turcicus* ekstreleri uygulanmış tedavi grubu HUC-F hücrelerinde 24. saatte göç mesafesi, MeOH, EA %64.04, %49.34 azalırken, su, kloroform ve *n*-hekzan için, %130.61 %370.38, %533.37 artmıştır. Tedavi grubu HUC-F hücrelerinde 48. saatte göç mesafesi MeOH, EA için %67.35, %59.64 azalmış, su, kloroform, *n*-hekzan için %0.11, %84.07, %149.81 arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca tedavi grubu HUC-F hücrelerinde 72. saatte ise göç mesafesi MeOH, EA, su için %72.99, %60.77, %10.39 azalırken, kloroform ve *n*-hekzan için, %53.81, %118.50 artmıştır. Bu bulgular, *B. turcicus* bitkisinin farklı ekstrelerinin pankreas kanser hücrelerinin migrasyonunu ve yara kapanmasını modüle etme potansiyeline işaret etmektedir.

B. spargulifolius'un ekstrelerinin olgun adipositler üzerindeki etkisini değerlendiren bir araştırmada, hücre migrasyonu ve yara iyileştirme kapasitesi üzerindeki etkileri çizik testi kullanılarak incelemiş, hücre migrasyonu ve yara kapanma, 48 saat boyunca gözlenmiştir. Tedavi edilmemiş ön-adiposit ve adiposit içeren kuyularda, 30. saatte tam yara kapanma gözlendiğini, ancak, *B. spargulifolius* ekstreleri IC₅₀ değeri uygulandığında, adipositlerde hücre migrasyonu yavaşladığı ve genellikle yara kapanmasını geciktirdiği belirlenmiştir. *B. spargulifolius*'un MeOH, EA ve sulu ekstrelerinin, özellikle 30. saat sonrasında yara bölgesinde sırasıyla %59.35, %90.40 ve %55.58 oranında migrasyonu ve kapanmayı engellediğini gözlemlemişler. Sonuç olarak, *B. spargulifolius*' un olgun 3T3-L1 adipositlerinde yara kapanmayı geciktirdiği belirlenmiştir (Derici vd. 2021). Bu bağlamda, *Bolanthus*'un farklı bir türü olan *B. turcicus* ' un MeOH, etil asetat, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerinin MIA PaCa-2 ve HUC-F hücrelerinde hücre migrasyonu ve yara kapanma kapasitesi üzerindeki potansiyel etkisini scratch testi ile incelediğimizde. *B. turcicus* ' un MeOH ve etil asetat ekstrelerinin, diğer çözücülere oranla daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Flavonoitler antioksidan, antiviral, antifungal, antibakteriyel, antienflamatuvar, antidiyabetik, antiobezite, antimutajenik, kardiyoprotektif ve antikanser aktiviteleri dahil olmak üzere birçok biyolojik etkiler sergilemektedir (Al Aboody ve Mickymaray, 2020; Bai vd. 2019; Pietta, 2000; Ren vd. 2003; Weston ve Mathesius, 2013). Antikanserojen etkileri değerlendirildiğinde, bitkisel kaynaklı doğal bileşikler olan flavonoitlerden genistein, daidzein, baikalein, flavopridol, apigenin ve katesinlerin pankreas kanseri hücreleri üzerindeki etkileri gösterilerek pankreas kanseri önlenmesi ve tedavisinde önemli terapötik ajan olabilecekleri belirtilmiştir (Roginsky vd. 2005). Flavonoitlerin yanı sıra diterpenoit yapıda olan oridonin ve fenolik yapıda olan kurkumin gibi bileşiklerin pankreas kanserinde apoptotik direncin üstesinden gelecek yeni stratejiler sağlayacağı da ifade edilmiştir (Li ve Leung 2014). Flavonoitler, kemferol, luteolin ve apigenin içeren ikincil bitki metabolitleridir, antioksidan ve antienflamatuvar etkileri ile doku hasarını veya fibrozu azalttığı yaygın olarak bilinmektedir (Maleki vd. 2019; Zhao vd. 2019). Kemferolün yakın zamanda kolorektal kanser, meme kanseri, melanom ve hepatom gibi çeşitli kanserlerde hücre proliferasyonunun inhibisyonu, hücre döngüsü arrestması, apoptoz indüksiyonu, hücre invazyonu ve göçün baskılanması dahil olmak üzere ROS aracılı antikanser özelliklerine sahip olduğu bildirilmiştir (Choi vd.2018; Liao vd. 2016; Sun vd.2017; Zhang vd. 2015). Kemferol tedavisinin *in vitro* ve *in vivo* TGM2'nin farmakolojik inhibisyonuna neden olduğunu ve TGM2 ekspresyonu ile ROS'a bağlı apoptozun düzenlenmesi arasında negatif bir korelasyon gözlemlendiği belirtilmiş, bu da TGM2'nin pankreas kanseri tedavisi için kemferol'ün potansiyel bir antikanser hedefi olabileceğini belirtmişlerdir (Wang vd. 2021). Flavonoitler, tümör hücrelerindeki reaktif oksijen türlerini (ROS) seviyelerini modüle ederek, kanserojenleri, proinflamatuvar yolları, anjiyogenezi, otofajiyi inhibe ederek, apoptozu indükleyerek, tümör proliferasyonunu ve invazyonunu inhibe ederek antineoplastik mekanizmalara aracılık etmektedirler (Anantharaju vd. 2016; Mohana vd. 2018; Hosseinzadeh vd. 2023; De Sousa Silva vd. 2023; Parekh vd. 2023; Rahman vd. 2021; Kim, 2003; Marques vd. 2021; Li vd. 2020). *B. turcicus*' un pankreas kanseri hücreleri üzerinde antikanser etkileri bilinmemekle birlikte sitotoksik ve apoptotik etkilerini gösteren çalışmalarda mevcut değildir. Bu çalışma ile ilk defa ortaya konulmuştur. *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının MIA PaCa-2 ve HUC-F hücreleri üzerinde apoptotik aktiviteye sahip olup olmadığını araştırmak için Kaspaz-3 enzim aktivite düzeyi Caspase-3 testi ile ve Bax/Bcl-2 dengesi değerlendirilmiştir. Bax/Bcl-2 dengesi ve kaspaz-3 aktivasyonunun apoptoziste önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Porter ve Jänicke, 1999).

B. turcicus pankreas kanser hücrelerinde apoptozis üzerindeki etkisini değerlendirmek için *B. turcicus* ekstresi uygulanmamış standart besiyerinde kültüre edilen hücreler kontrol grubu, *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerinin IC₅₀ dozuna 24 saat maruz bırakılan MIA PaCa-2 ve HUC-F hücreleri ise tedavi grubu olarak çalışılmıştır. Kontrol grubuna kıyasla, *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstre tedavisi MIA PaCa-2 hücre hatlarında kaspaz-3 enzim aktivite düzeyi sırasıyla %152.73, %122.03, %76.45, %32.58 ve %6.21 oranında anlamlı bir artış belirlenmiştir. Kontrol grubuna kıyasla, *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstre tedavisi HUC-F hücre hatlarında kaspaz-3 enzim aktivite düzeyi sırasıyla %5.83, %4.25, %3.31, %1.57 ve %1.41 oranında anlamlı bir artış tespit edilmiştir. *B. turcicus*' un apoptotik etki mekanizmasını değerlendirmek amacıyla kaspaz-3 gen ifade düzeyleri incelenmiştir. *B. turcicus*' un doğrudan kaspaz-3 gen ifadesi üzerine etkisini belirten herhangi bir çalışma olmamakla birlikte, *B. turcicus*' dan elde edilen MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstrelerinin, insan pankreas kanser hücrelerinde apoptozla ilişkili, Bax, Bcl2 genlerinin yanı sıra kaspaz-3 geninin ifadesi üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada apoptotik efektör kaspaz-3' ün aktivitesini arttırarak apoptozu uyardığı belirlenmiştir.

qRT-PCR analizine göre, kontrol grubuna kıyasla *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstreleri uygulanmış tedavi grubu MIA PaCa-2 hücrelerinde CASP-3 için mRNA seviyesindeki ekspresyonu sırasıyla, %242, %190.75, %136.22, %94.82 ve %54.71 oranında artış göstermiştir. Bununla birlikte kontrol grubuna kıyasla *B. turcicus* MeOH, su, *n*-hekzan, kloroform ve EA ekstreleri uygulanmış tedavi grubu MIA PaCa-2 BAX genleri için mRNA seviyesindeki ekspresyonu sırasıyla, %205.17, %150.11, %100.47, %60.23 ve %40.47 oranında artmıştır. Ancak BCL-2 geninin mRNA seviyesindeki ekspresyonu %52.53, %43.45, %36.27, %28.29 ve %14.25 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Pankreas kanseri hücrelerinde *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan antikanser etkilerini incelemek amacıyla MIA PaCa- 2 hücre hatlarında yapılan çalışmada; *B. turcicus* MIA PaCa-2 hücrelerinde önemli derecede çözücü farklılıklarına bağımlı olarak apoptotik hücre sayısında artışa, kaspaz-3 aktivasyonunda artışa, antiapoptotik Bcl-2 proteinlerin ifadesinde azalmaya, proapoptotik Bax proteininin ifadesinde artışa yol açtığı belirlenmiştir.

qRT-PCR analizine göre, kontrol grubuna kıyasla *B. turcicus* MeOH, EA, su,

kloroform ve *n*-hekzan ekstreleri uygulanmış tedavi grubu HUC-F hücrelerinde CASP-3 için mRNA seviyesindeki ekspresyonu sırasıyla, %0.92, %2.76, %1.23, %1.53 ve %2.15 oranında artmıştır. Bununla birlikte kontrol grubuna kıyasla *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan ekstreleri uygulanmış tedavi grubu HUC-F hücrelerinde BAX genleri için mRNA seviyesindeki ekspresyonu sırasıyla, %0.62, %8.92, %4.14, %8.71 ve %7.46 oranında arttığı tespit edilmiştir. Ancak BCL-2 geninin mRNA seviyesindeki ekspresyonu %0.21, %0.64, %0.53, %0.32 ve %0.26 oranında azalmıştır. Pankreas kanseri hücrelerinde *B. turcicus* MeOH, EA, su, kloroform ve *n*-hekzan antikanser etkilerini incelemek amacıyla HUC-F hücre hatlarında yapılan çalışmada; *B. turcicus* HUC-F hücrelerinde önemli derecede çözücü farklılıklarına bağımlı olarak apoptotik hücre sayısında artışa, kaspaz-3 aktivasyonunda artışa, antiapoptotik Bcl-2 proteinlerin ifadesinde azalmaya, proapoptotik Bax proteininin ifadesinde artışa yol açtığı belirlenmiştir.

B. spergulifolius'un ekstrelerinin olgun adipositler üzerindeki etkisini değerlendiren bir araştırmada, *B. spergulifolius*'un MeOH, EA ve sulu ekstrelerin olgun 3T3-L1 adipositlerinde pro-apoptotik Bax geninin sırasıyla %264.05, %347.90 ve %161.64 oranında, anti-apoptotik Bcl-2 geninin ise sırasıyla %15.71, %49.01 ve %18.13 oranında regülasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Bax/Bcl-2 oranındaki değişiklik ile apoptozis arasındaki ilişki göz önüne alındığında, sonuçların *B. spergulifolius*'un olgun adipositlerde apoptozise neden olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda olduğu gibi etkili bileşikleri alabilmek için metanol ve etil asetatın etkili bir çözücü olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda, MIA PaCa-2 hücrelerine *B. turcicus* ekstreleri ile yapılan işlemin mRNA, protein ve hücresel düzeyde anlamlı bir artışa neden olduğunu gösteren kaspaz-3, qRT-PCR ve immüno Floresan boyama verilerinin tutarlı olduğu belirlenmiştir. *B. turcicus*'un pankreas kanseri tedavisinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, daha önce *Bolanthus* cinsi üzerinde anatomik çalışmaların olmaması nedeniyle 6 farklı *Bolanthus* taksonunun anatomik çalışmaları yapılarak kendi aralarında karşılaştırılmıştır. *B. turcicus*' un kurutulmuş toprak üstü kısımlarından total metanol ekstre ve total ekstreden hareketle etil asetat, kloroform, *n*-hekzan ve su fraksiyonları elde edilmiştir. Literatür araştırmalarımız ışığında gerek fitokimyasal içeriklerinin gerekse etkilerinin belirlendiği çok fazla çalışmanın olmaması nedeniyle toplam fenolik madde ve toplam flavonoit madde miktar tayini, LC-MS-QTOF ve YPSK analiz yöntemleri ile kimyasal profilleri açıklanmaya çalışılmıştır. Bitkinin antioksidan kapasitesi DPPH, ABTS ve FRAP testleri ile değerlendirilmiştir. *B. turcicus* ekstrelerinin toplam fenolik madde içeriği (TPC) ve toplam flavonoit madde içeriği (TFC) değerlerine bakıldığında metanol ekstresinin daha zengin olduğu tespit edilmiştir. Antioksidan aktivitelerinin tayini için yapılan DPPH, ABTS ve FRAP serbest radikallerini temizleme yetenekleri incelendiğinde yine metanol ekstresinin daha etkili olduğu görülmüştür. Bu da *B. turcicus*'ta etkili bileşikler alabilmek için metanolün daha uygun bir çözücü olduğu sonucunu göstermektedir.

Çalışmamızda *B. turcicus* bitkisinden farklı çözücülerle elde edilen ekstrelerin HUC-F (fibroblast hücre hattı) ve MIA PaCa-2 (pankreas kanseri epitel hücre hattı) hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerin belirlenmesi ve potansiyel antikanser aktivitelerin değerlendirmesi amaçlanmıştır. Öncelikle, Mitokondriyal Dehidrogenaz Enzim Aktivitesi (MTT) kolorimetrik yöntemi kullanılarak yapılan hücre viabilitesi analizlerinde ekstrelerin IC₅₀ değerini belirlenmiştir. *B. turcicus* ekstrelerinin hem HUC-F hem de MIA PaCa-2 hücre hatları üzerinde sitotoksik etkiler gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, bitki ekstresinin sitotoksik etkilere sahip olduğunu ve özellikle pankreas kanseri hücreleri üzerinde belirgin bir etki sergilediğini göstermektedir. Scratch testi ve hücre sağkalımının ikili boyama analizi (DAPI-F-ACTIN), *B. turcicus* ekstresinin HUC-F ve MIA PaCa-2 hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkilerini doğrulamak için kullanılmıştır. Bu testler, bitki ekstresinin hücre migrasyonunu ve sağkalımını etkileyebileceğini, potansiyel antikanser aktivitesinin bir göstergesi olabileceğini belirlemek için kullanılarak, sonuçlar fotoğrafsal ve nicel olarak değerlendirilmiştir. Apoptotik aktivitenin değerlendirilmesi, florometrik (Kaspaz 3 aktivasyonu analizi) ve moleküler (qRT-PCR analizi) çalışmalar ile tespit

edilmiştir. Bitki ekstralarının apoptozu artırma potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada, kaspaz-3 ve qRT-PCR analizleri kullanılarak belirli gen ekspresyon düzeyleri üzerindeki değişiklikler incelenmiştir. Bulgular, bitki ekstresinin apoptotik yolları modüle edebileceğini ve hücre döngüsü regülatörlerini etkileyebileceğini göstermektedir. Bu, bitki ekstresinin pankreas kanser hücrelerinde programlı hücre ölümünü tetikleyebileceğini ve hücre proliferasyonunu düzenleyebileceğini düşündürmektedir. Moleküler analizlerde, qRT-PCR ile belirlenen gen ekspresyon düzeyleri, *B. turcicus* ekstresinin hücre ölümü ve apoptozu yönlendiren genler üzerindeki etkilerini göstermektedir. Bu genlerin incelenmesi, bitki ekstresinin hücre ölüm mekanizmalarını nasıl etkilediğini anlamak için önemlidir. Ekstre tedavisi metanol ekstresinde özellikle pankreas kanser hücrelerinin çoğalmasını diğer ekstralara göre yavaşlatmıştır. Ekstrelerin HUC-F ve MIA PaCa-2 hücre hatları üzerinde fotoğrafsal ve nicel olarak qRT-PCR, kaspaz-3 ve immüno Floresans boyama ile değerlendirilmiştir. Ayrıca, ekstraların HUC-F ve MIA PaCa-2 hücre hatları üzerinde Bax ve Bcl-2 genlerinin mRNA düzeyinde ekspresyonu nicel olarak değerlendirilmiştir. *B. turcicus* ekstraları Bax genini yukarı regüle ederken Bcl-2 genini aşağı regüle ederek Bax/Bcl-2 oranını değiştirdiği tespit edilmiştir. Ekstrelerin HUC-F ve MIA PaCa-2 yara kapama kapasitesini fotoğrafsal ve nicel olarak çizik testi kullanarak incelenmiştir. *B. turcicus* ekstralarının yara kapanmasını geciktirdiği gözlenmiştir. Ekstrelerin HUC-F ve MIA PaCa-2 hücre morfolojisi ve çapı üzerindeki etkisini fotoğrafsal ve nicel olarak kontrast faz, immüno Floresans ve F-ACTIN/DAPI boyama kullanarak değerlendirilmiştir. Ekstrelerin MIA PaCa-2 çapını baskılayıp küresel morfolojiyi etkiledikleri sonucuna varılmıştır

Çalışmamızda amaç pankreas kanseri tedavisi için yeni terapötik yaklaşımların değerlendirilmesini içermektedir. Yapılan *in vitro* deneyler, bitki ekstralarının pankreas kanseri hücrelerinde apoptozisi artırabileceğini ve tümör büyümesini inhibe edebileceğini göstermiştir. Bu, gelecekteki klinik çalışmalarda kullanılabilecek potansiyel bir terapötik strateji olarak değerlendirilebilir. Literatür taraması ve elde edilen veriler, pankreas kanseri ile ilgili bilgi eksikliklerinin olduğunu ve bu alanda daha fazla araştırmanın gerekliliğini vurgulamaktadır. Özellikle, pankreas kanserinin erken tanısı ve etkili tedavisi konularında daha fazla bilgiye ihtiyaç vardır. Bu çalışma, gelecekteki araştırmalara temel oluşturacak ve pankreas kanseriyle mücadelede yeni stratejilerin geliştirilmesine katkıda bulunacaktır. Pankreas kanseri ile mücadelede daha etkili stratejiler geliştirmek için

multidisipliner yaklaşımların benimsenmesi gerekmektedir. Ayrıca, bu çalışmanın önemli bir yönü, bitki ekstresinin normal hücreler üzerindeki etkilerini de değerlendirmesidir. Hücre ölümü ve canlılık analizleri, bitki ekstresinin pankreas kanser hücre hatlarında seçici bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bu, bitki ekstresinin potansiyel terapötik ajan olarak kullanımının, normal hücreleri olumsuz etkilemeden sadece kanser hücrelerini hedefleyebileceği anlamına gelmektedir. Sonuç olarak, bu çalışma, belirli bir bitki ekstresinin pankreas kanser hücre hatları üzerindeki biyolojik etkilerini anlamak için bir temel oluşturmaktadır. Elde edilen bulgular, bu bitki ekstresinin pankreas kanseri tedavisi için potansiyel bir aday olarak değerlendirilmesini desteklemektedir. Ancak, mekanizmasını anlayabilmek için daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Sonuç olarak, tez kapsamında yaptığımız çalışmayla *B. turcicus* bitkisinden elde edilen ekstrelerin HUC-F ve MIA PaCa-2 hücre hatları üzerindeki yara kapanmasını geçiktirme etkisi, apoptozisi indüklemeye etkisi, sitotoksik etkileri ve potansiyel antikanser aktivitesi, *in vitro* olarak saptanarak bitkinin biyoaktif yeteneklerini ortaya koymaktadır. Bu ön veriler, *B. turcicus*'tan izole edilecek bileşenlerin keşfi ve ürün elde etme amacıyla kullanılacak fitofarmasötik stratejilerin geliştirilmesi için bir temel sağlayabilir. *Bolanthus* cinsi taksonları Türkiye'ye endemik olan ve bilimsel literatürde henüz kapsamlı bir şekilde incelenmemiş bir bitkidir. Bu nedenle, bu çalışma, bitkinin taksonomisi, fitokimyasal bileşenleri ve özellikle pankreas kanseri hücreleri üzerindeki potansiyel etkileri açısından ilk defa detaylı bir şekilde ele alınmış bir çalışmadır. Bitkinin morfolojik özellikleri, kök, gövde ve yaprak anatomisi üzerindeki incelemeler, ayrıca farklı çözücülerle elde edilen ekstrelerin pankreas kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri bu çalışmanın temel odak noktalarını oluşturmaktadır. Elde edilecek bulgular, *B. turcicus*'un biyolojik özellikleri ve potansiyel terapötik kullanımları konusunda değerli bilgiler sunarak bilim dünyasına önemli bir katkı sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

- Aftab, 2019. 'A revgeu of medgegnal and aromatgc plants and thegr secondary metabolgtes status under abgotgc stress', *Journal of Med;c;nal Plants*, 7(3), 99-106.
- Aktürk, C., & Yılmaz, Ö. (2021). Endemgk Gypsophgla olympgca Bogss.(Caryophyllaceae) Türünün Morfolojgk, Anatomgk, Palgnolojgk ve Karyolojgk Özellgklerg. *Bağbahçe Bglgm Derggsg*, 8(1), 111-120.
- Al Aboody, M. S., & Mickymaray, S. (2020). Anti-fungal efficacy and mechanisms of flavonoids. *Antibiotics*, 9(2), 45.
- Al-Quran, S. (2008). Taxonomgcal and pharmacologgcal survey of therapeutgc plants gn Jordan. *J Nat Prod*, 1(1), 10-26.
- Anand, P., Kunnumakara, A. B., Sundaram, C., Hargkumar, K. B., Tharakan, S. T., Lag, O. S., ... & Aggarwal, B. B. (2008). Cancer gs a preventable dgsease that requgres major lgfestyle changes. *Pharmaceut;cal research*, 25, 2097-2116.
- Anantharaju, P. G., Gowda, P. C., Vimalambike, M. G., & Madhunapantula, S. V. (2016). An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers. *Nutrition journal*, 15(1), 1-16.
- Andersson, B. (2010). Acute pancreatitis-severity classification, complications and outcome (Vol. 2010, No. 60). Lund University.
- Andren-Sandberg, A. (2011). Tumors of the body and tail of the pancreas. *North American Journal of Medical Sciences*, 3(11), 489-494.
- Angmo, K., Adhgkarg, B. S., & Rawat, G. S. (2012). Changgng aspects of tradgtgonal healthcare system gn Western Ladakh, Indga. *Journal of ethnopharmacology*, 143(2), 621-630.
- Angst, E., Park, J. L., Moro, A., Lu, Q. Y., Lu, X., Lg, G., ... & Hgnes, O. J. (2013). The flavonogd quercetgn gnhgbgts pancreatgc cancer growth ;n v;tro and ;n v;vo. *Pancreas*, 42(2), 223.
- Ansari, D., Tingstedt, B., Andersson, B., Holmquist, F., Stureson, C., Williamsson, C., Sasor, A.; Borg, D.; Bauden, M., & Andersson, R. (2016). Pancreatic cancer: yesterday, today and tomorrow. *Future oncology*, 12(16), 1929-1946.
- Armağan, M., & Özgökçe, F. (2018). Anatomgcal, palynologgcal, morphologgcal, karyologgcal, and ecologgcal gnvestggatgons on Gypsophgla davsggg. *Anatol;an Journal of botany*, 2(1), 39-45.
- Arrojo e Drngo, R., Alg, Y., Dgez, J., Srgngvasan, D. K., Berggren, P. O., & Boehm, B. O. (2015). New gnsggths gnto the archgtecture of the gslet of Langerhans: a focused cross-specges assessment. *D;abetolog;a*, 58, 2218-2228.

Asghargan, P., Tazehkand, A. P., Soofgyang, S. R., Hosseing, K., Martorell, M., Tarhrz, V., ... & Cho, W. C. (2021). Quercetin impact on pancreatic cancer: an overview on its therapeutic effects. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021.

Ataşlar, E., & Ocak, A. (2017). Anatomy and micro morphology of the endemic *Gypsophila osmangazensis* (Caryophyllaceae) and taxonomic contributions for the genus *Gypsophila*. *Phytotaxa*, 331(1), 84-92.

Aune, D., Greenwood, D. C., Chan, D. S. M., Vieira, R., Vieira, A. R., Rosenblatt, D. N., ... & Norat, T. (2012). Body mass index, abdominal fatness and pancreatic cancer risk: a systematic review and non-linear dose-response meta-analysis of prospective studies. *Annals of oncology*, 23(4), 843-852.

Avcı, M. (1993). Türkiye'nin flora bölgeleri ve "Anadolu Diagonal" ne coğrafik bir yaklaşım. *Türk Coğrafya Dergisi*, (28), 225-248.

Baba, A. I., & Câtog, C. (2007). Tumor cell morphology. In *Comparative oncology*. The Publishing House of the Romanian Academy.

Bai, L., Li, X., He, L., Zheng, Y., Lu, H., Li, J., ... & Li, J. (2019). Antidiabetic potential of flavonoids from traditional Chinese medicine: a review. *The American journal of Chinese medicine*, 47(05), 933-957.

Ballabh, B., & Chaurasia, O. P. (2011). Herbal formulations from cold desert plants used for gynecological disorders.

Ballabh, B., Chaurasia, O. P., Ahmed, Z., & Singh, S. B. (2008). Traditional medicinal plants of cold desert Ladakh—used against kidney and urinary disorders. *Journal of ethnopharmacology*, 118(2), 331-339.

Bardeesy, N., & DePamphilis, R. A. (2002). Pancreatic cancer biology and genetics. *Nature Reviews Cancer*, 2(12), 897-909.

Barkoudah, Y.I. & Akeroyd, J.R. (1993) *Bolanthus* (Ser.) Rechb. In: Tutin, T.G., Burges, N.A., Chater, A.O., Edmondson, J.R., Heywood, V.H., Moore, D.M., Valentignè, D.H., Walters, S.M. & Webb, D.A. (Eds.) *Flora Europaea*, vol. 1. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 222–223.

Barkoudah, Y.I. (1962) A revision of *Gypsophila*, *Bolanthus*, *Ankyropetalum* and *Phryna*. *Botanical Museum and Herbarium*, Utrecht, pp. 157-187.

Berrington de Gonzalez A., Sweetland, S., & Spencer, E. (2003). A meta-analysis of obesity and the risk of pancreatic cancer. *British journal of cancer*, 89(3), 519-523.

Bianchi, F., Sommariva, M., Cornaghi, L. B., Denti, L., Nava, A., Arnaboldi, F., Moscheni C., & Gagliano, N. (2022). Mechanical cues, E-cadherin expression and cell “sociality” are crucial crossroads in determining pancreatic ductal adenocarcinoma cells behavior. *Cells*, 11(8), 1318.

Bgttrgch, V. (1993). Caryophyllaceae. In: Kubgtzkg, K., Rohwer, J.G. ve Bgttrgch, V. (Eds.) *The fam;l;es and genera of vascular plants, Flower;ng plants, D;cotyledons, Magnol;;d, Hamamel;d and Caryophyll;d fam;l;es*. Sprgnger, Berlgn, Vol. 2: 206 – 236.

Boissier, E. (1867) *Flora Orientalis*, Genevae, v.1, s.25-558.

Boissier, E.P., & Heldreich, T.H.H. (1842). *Heterochroa sp. Jaub. et Sp., Illustrationes*

Boreddy SR, Srivastava SK, 2013. Pancreatic cancer chemoprevention by phytochemicals. *Cancer Lett*, 334, 86-94.

Bosetti, C., Bertuccio, P., Negri, E., La Vecchia, C., Zeegers, M. P., & Boffetta, P. (2012). Pancreatic cancer: overview of descriptive epidemiology. *Molecular carcinogenesis*, 51(1), 3-13.

Bosetti, C., Rosato, V., Li, D., Silverman, D., Petersen, G. M., Bracci, P. M., ... & Ghadirian, P. (2014). Diabetes, antidiabetic medications, and pancreatic cancer risk: an analysis from the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium. *Annals of oncology*, 25(10), 2065-2072.

Braun, A.L. (1843). *Be;trag zur Feststellung natürl;cher Gattungen unter den S;leneen*. Flora, 26: 349.

Brereton, M. F., Vergarg, E., Zhang, Q., & Clark, A. (2015). Alpha-, delta-and PP-cells: are they the archtgetctural cornerstones of gslet structure and co-ordgnatgon? *Journal of H;stochem;stry & Cytochem;stry*, 63(8), 575-591.

Cag, J., Chen, H., Lu, M., Zhang, Y., Lu, B., You, L., ... & Zhao, Y. (2021). Advances gn the epgdemgology of pancreatgc cancer: Trends, rgsk factors, screengng, and prognosgs. *Cancer letters*, 520, 1-11.

Calle, E. E., Rodriguez, C., Walker-Thurmond, K., & Thun, M. J. (2003). Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of US adults. *New England Journal of Medicine*, 348(17), 1625-1638.

Can Ağca, A., Altay, D., Yilmaz Sarıaltın, S., Bahadır Acikara, Ö., Sever Yilmaz, B., & Koç, M. (2023). Chemical compounds isolated from aerial parts of *Bolanthus aziz-sancarii*, a new species from Türkiye. *Natural Product Research*, 1-7.
DOI:10.1080/14786419.2023.2293146

Carocho M., Ferregra, I.C. (2013). The role of phenolgc compounds gn the fgght agagnt cancer-a revgew. *Ant;cancer Agents Med Chem*, 13:1236–58.

Cemal, D. ve Yildiz, G. (2022a). The effect of drying temperature, cutting types, storage degree and period on physical, chemical and physicochemical properties of red capia pepper, *Latin American Applied Research Journal*, 52 (1):67-72.

Cesmebasi, A., Malefant, J., Patel, S. D., Plessis, M. D., Renna, S., Tubbs, R. S., & Loukas, M. (2015). The surgical anatomy of the lymphatic system of the pancreas. *Clinical Anatomy*, 28(4), 527-537.

Chakravarty, A. R. H. (1988). Medicinal plants of Iraq, Ministry of Agriculture and Irrigation, State Board for Agricultural and Water Resources Research. *National Herbarium of Iraq, Baghdad*, 93.

Chamokova, B., Bastati, N., Poetter-Lang, S., Bican, Y., Hodge, J. C., Schindl, M., ... & Bassalamah, A. (2018). The clinical value of secretin-enhanced MRCP in the functional and morphological assessment of pancreatic diseases. *The British journal of radiology*, 91(1084), 20170677.

Chandra, R., & Liddle, R. A. (2011). Recent advances in pancreatic endocrine and exocrine secretion. *Current opinion in gastroenterology*, 27(5), 439-443.

Chandra, R., & Liddle, R. A. (2013). Modulation of pancreatic exocrine and endocrine secretion. *Current opinion in gastroenterology*, 29(5), 517-522.

Chandra, S., & Rawat, D. S. (2015). Medicinal plants of the family Caryophyllaceae: a review of ethno-medicinal uses and pharmacological properties. *Integrative Medicine Research*, 4(3), 123-131.

Choi, J. B., Kim, J. H., Lee, H., Park, J. N., Shon, B. S., & Kim, S. H. (2018). Reactive oxygen species and p53 mediated activation of p38 and caspases is critically involved in kaempferol induced apoptosis in colorectal cancer cells. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(38), 9960-9967.

Cuccione, M. M., Aquilino, A., Cortese, F., Scicchitano, P., Sassara, M., Mola, E., ... & Bux, F. (2010). Feasibility and effectiveness of a disease and care management model in the primary health care system for patients with heart failure and diabetes (Project Leonardo). *Vascular health and risk management*, 297-305.

Collgsson, E. A., Bagley, P., Chang, D. K., & Bhang, A. V. (2019). Molecular subtypes of pancreatic cancer. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 16(4), 207-220.

Cowge ID. Flora of the Darwin Region Vol.1. Sydney: National Library of Australia, 2011.
Cowge, E. (2011). *Recording reality, describing the real* (Vol. 24). U of Minnesota Press.

Cömert, Y., & Topal, M. N. 2021. Pollen morphology in the genus *Bolanthus* (Caryophyllaceae) in Turkey. *Sakarya University Journal of Science*, 25(1), 40-54.

Cubilla, A. L., & Fitzgerald, P. J. (1976). Morphological lesions associated with human primary invasive nonendocrine pancreas cancer. *Cancer research*, 36(7_Part_2), 2690-2698.

Dash, S., Nath, L. K., & Bhargava, S. (2005). Antioxidant and antimicrobial activities of *Heracleum nepalense* root. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 4(1), 341-347.

Davies P.H., (Ed). (1965-1985). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburgh: Edinburgh University Press, v. 1-9.

Davgs P.H., Mgl R.R., Tan K. (1988). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edgnburgh: Edgnburgh Ungversgty Press, v.10.

Davis, P. H. & Hedge, I. C. (1975). The Flora of Turkey: past, present, and future. *Candollea*, 30: 331–351.

Davoodi, S. H., Malek-Shahabi, T., Malekshahi-Moghadam, A., Shahbazi, R., & Esmaeili, S. (2013). Obesity as an important risk factor for certain types of cancer. *Iranian journal of cancer prevention*, 6(4), 186-194.

De Candolle, A. L. P. (1824). *Prodromus sytemat;s natural;s regn; vegetab;l;s*. s. 366.

De La Cruz, M. S. D., Young, A. P., & Ruffin, M. T. (2014). Dgagnosgs and management of pancreatgc cancer. *Amer;can fam;ly phys;c;an*, 89(8), 626-632.

De Sousa Silva, G. V., Lopes, A. L. V. F. G., Viali, I. C., Lima, L. Z. M., Bizuti, M. R., Haag, F. B., & Tavares de Resende e Silva, D. (2023). Therapeutic properties of flavonoids in treatment of cancer through autophagic modulation: a systematic review. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 29(3), 268-279.

Dergcg, G. E., Özdaş, S., Canatar, İ., & Koç, M. (2021). Antgdgabetgc actgvgtges of Bolanthus spergulfolgus (Caryophyllaceae) extracts on gnsulgn-resgstant 3T3-L1 adgpocytes. *PloS one*, 16(6), e0252707.

Diplock, A.T. (1994). Antioxidant nutrients and disease prevention. *Molecular Aspects of Medicine*, 15:293-376

Dolenšek, J., Rupngk, M. S., & Stožer, A. (2015). Structural sgmglartges and dgfferences between the human and the mouse pancreas. *Islets*, 7(1), e1024405.

Donald G, Hertzner K, Eibl G, (2012). Baicalein – an intriguing therapeutic phytochemical in pancreatic cancer. *Curr Drug Targets*, 13, 1772-6.

Ducreux, M., Cuhna, A. S., Caramella, C., Hollebecque, A., Burtin, P., Goéré, D., ... & Arnold, D. (2015). Cancer of the pancreas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology*, 26, v56-v68.

Ekgm, T. (2014). Resgmlg Türkgye Florası, v. 1, s. 159-162, Türkgye İş Bankası Kültür Yayınları, İstanbul.

Endlgcher, S.L. (1836). Genera Plantarum secundum ordgnes naturales dgsposgta Caryophyllaceae. In: Fenzl, E., Endlgcher, S. L., Frgedrgch Beck, Wegn, v. 1, s. 1- 600.

EP, D. (1999). Epidemiology, diagnosis, and treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Gastroenterology*, 117, 1463-1484.

Ercan, F. S., Azarkan, S. Y., Ercan, N., & Koc, M. (2020). Sequence vargants of CYP345a1 and CYP6a14 gene reggons gn Trgbolgum castaneum (Coleoptera: Tenebrgongdae) adults treated wgtg the novel characterized *Bolanthus turc;cus* (Caryophyllaceae) extract. *Molecular B;ology Research Commun;cat;ons*, 9(3), 105.

- Eröz R., Alkoç O.A., Baltacı D., Oktay M., Çolakoğlu S. (2012). Apoptozgs Hakkında Bglgnenler. *Duzce Med;cal Journal*, 14(2), 87-101.
- Fallas, M. E. A., Pedraza-Arevalo, S., Cujba, A. M., Manea, T., Lambert, C., Morrugares, R., & Sancho, R. (2021). Stem/Progenitor cells gn normal physiology and disease of the pancreas. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 538, 111459.
- Ferlay, J., Partensky, C., & Bray, F. (2016). More deaths from pancreatic cancer than breast cancer in the EU by 2017. *Acta oncologica*, 55(9-10), 1158-1160.
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dgkshgt, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkgn, D.M., Forman, D. & Bray, F. (2015). Cancer gncgdnce and mortality worldwde: sources, methods and major patterns gn GLOBOCAN 2012. *Internat;onal journal of cancer*, 136(5), 359- 386.
- Fgor, S., Kargs, P. O., Casazza, G., Mgnuto, L., & Sala, F. (2006). Molecular phylogeny of the Caryophyllaceae (Caryophyllales) gnferred from chloroplast matK and nuclear rDNA ITS sequences. *Amer;can journal of botany*, 93(3), 399-411.
- Fujgta, M., Hasegawa, A., Yamamorg, M., & Okamura, N. (2017). In vgtro and gn vgvo cytotoxgcgty of troglgtazone gn pancreatgc cancer. *Journal of Exper;mental & Cl;n;cal Cancer Research*, 36(1), 1-9.
- Gaygısız, Ç. (2018). Türkgye Bolanthus (Ser.) Rchb. (Caryophyllaceae) cgnsgne agt taksonların tohum yüzeylergn gnclenmesg. Yüksek Lgsans Tezg. Yozgat Bozok Ünversgtesg Fen Bglgmrg Enstgtüsü, Yozgat.
- Garcia-Lafuente, A., Guillamon, E., Villares, A., Rostagno, M.A., Martinez J.A. (2009). Flavonoids as antiinflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflamm. Res.*, 58: 537–552
- Ggthens, S. (1993). Dgfferentgatgon and development of the pancreas gn angmals. *The Pancreas: B;ology, Pathob;ology and D;sease*, 2nd Ed. New York: Raven Press, Ltd, 21-55.
- Glasel, J. A. (1995). Validity of nucleic acid purities monitored by 260nm/280nm absorbance ratios. *Biotechniques*, 18(1), 62-63.
- González-Tejero, M. R., Casares-Porcel, M., Sánchez-Rojas, C. P., Ramgro-Gutgérrez, J. M., Molero-Mesa, J., Pgerong, A., ... & ElJohrgg, S. (2008). Medgcgnal plants gn the Medgtteranean area: syntheses of the results of the project Rubga. *Journal of ethnopharmacology*, 116(2), 341-357.
- Govgnd, P. (2011). Medgcgnal plants agagnst lgver dgseases. *IJPR*, 2(5), 115-121.
- Guarrera, P. M., & Lucga, L. M. (2007). Ethnobotangcal remarks on central and southern Italy. *Journal of Ethnob;ology and Ethnomed;c;ne*, 3(1), 1-11.
- Guerra, C., & Barbacid, M. (2013). Genetically engineered mouse models of pancreatic adenocarcinoma. *Molecular oncology*, 7(2), 232-247.

Güner A., Aslan S., Ekim T., Vural M., Babaç M.T (Eds.). (2012). Türkiye bitkileri listesi (Damarlı Bitkiler). İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, 2012:361–2

Güner, A. (2000). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, v. 11, s. 45-47, Ungversgty Press, Edgnburgh.

Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K. H. C., & Hedge, I. C. (Eds.). (2000). *Flora of Turkey and the east Aegean Islands*. Edinburgh University Press.

Hafeez BB, Jamal MS, Fischer JW, Mustafa A, Verma AK, 2012. Plumbagin, a plant derived natural agent inhibits the growth of pancreatic cancer cells in in vitro and in vivo via targeting EGFR, Stat3 and NF-κB signaling pathways. *Int J Cancer*, 131, 2175-86.

Hamzaoglu, E., Koc, M., & Büyük, İ. (2017). *Bolanthus sandrasicus* sp. nov. (Caryophyllaceae) from Turkey. *Nordic Journal of Botany*, 35(5), 563-568.

Hanahan, D. (2022). Hallmarks of cancer: new dimensions. *Cancer discovery*, 12(1), 31-46.

Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*, 144(5), 646-674.

He, J., Ngng, C., Wang, Y., Ma, T., Huang, H., Ge, Y., ... & Jgang, Y. (2015). Natural plant flavonogd apggengn dgrectly dgsrupts Hsp90/Cdc37 complex and gnhgbgts pancreatgc cancer cell growth and mggratgon. *Journal of Funct;onal Foods*, 18, 10-21.

Hernandez-Ledesma, P., Berendsohn, W. G., Borsch, T., Von Mergng, S., Akhang, H., Argas, S., ... & Uotgla, P. (2015). A taxonomgc backbone for the global synthesgs of specges dgversgty gn the anggosperm order Caryophyllales. *W;lldenow;a*, 45(3), 281-383.

Heywood, L. (1998). *Bodymakers: A cultural anatomy of women's body building*. Rutgers University Press.

Hezel, A. F., Kgmmelman, A. C., Stanger, B. Z., Bardeesy, N., & DePgno, R. A. (2006). Genetgcs and bgology of pancreatgc ductal adenocarcgnoma. *Genes & development*, 20(10), 1218-1249.

Hgdalgo, M., Cascgnu, S., Kleeff, J., Labganca, R., Löhr, J. M., Neoptolemos, J., ... & Hegnemann, V. (2015). Addressgng the challenges of pancreatgc cancer: future dgrectgons for mgprovgng outcomes. *Pancreatology*, 15(1), 8-18.

Hoffmann, D. (2003). *Med;cal herbal;sm: the sc;ence and pract;ce of herbal med;c;ne*. Sgmon and Schuster.

Hosseinzadeh, A., Poursoleiman, F., Biregani, A. N., & Esmailzadeh, A. (2023). Flavonoids target different molecules of autophagic and metastatic pathways in cancer cells. *Cancer Cell International*, 23(1), 1-14.

Hruban, R. H., Adsay, N. V., Albores-Saavedra, J., Compton, C., Garrett, E. S., Goodman, S. N., ... & Offerhaus, G. J. A. (2001). Pancreatic intraepithelial neoplasia: a new

nomenclature and classification system for pancreatic duct lesions. *The American journal of surgical pathology*, 25(5), 579-586.

Hu, J. X., Zhao, C. F., Chen, W. B., Lgu, Q. C., Lg, Q. W., Lgn, Y. Y., & Gao, F. (2021). Pancreatgc cancer: A revgew of epdgmology, trend, and rgsk factors. *World journal of gastroenterology*, 27(27), 4298-4321.

Huber-Morath, A. (1967) *Bolanthus* (Ser.) Rchb. In: Davgs, P.H. (Ed.) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, vol. 2. Edgnburgh Ungversgty Press, Edgnburgh, pp. 171–174.

Huber-Morath, A., McNegll, J. & Reeve, H. (1968) Matergals for flora of Turkey XIV: Caryophyllaceae. *Notes Royal Botan;c Garden* 28: 17–23.

Hulkower, K. I., & Herber, R. L. (2011). Cell mggratgon and gnvasgon assays as tools for drug dgsccovery. *Pharmaceut;cs*, 3(1), 107-124.

İzli, G., Yildiz, G. ve Berk, S.E. (2022). Quality retention in pumpkin powder dried by combined microwave-convective drying. *Journal of Food Science and Technology*, 59:1558-1569.

Ilic, I., & Ilic, M. (2022). International patterns in incidence and mortality trends of pancreatic cancer in the last three decades: a joinpoint regression analysis. *World Journal of Gastroenterology*, 28(32), 4698-4715.

Ilic, M., & Ilic, I. (2016). Epidemiology of pancreatic cancer. *World journal of gastroenterology*, 22(44), 9694.

Informatgcs IIFH. Use of Opgogd Recovery Medgcatgons. www.gmshealth.com

International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. Global Cancer Observatory 2018.

Jacobetz, M. A., Chan, D. S., Neesse, A., Bapiro, T. E., Cook, N., Frese, K. K., ... & Tuveson, D. A. (2013). Hyaluronan impairs vascular function and drug delivery in a Mouse model of pancreatic cancer. *Gut*, 62(1), 112-120.

Jafarg S., Saegdnga S., Abdollahg M. (2014). Role of natural phenolgc compounds gn cancer chemopreventgon vga regulatgon of the cell cycle. *Curr Pharm B;otechnol*, 15:409–21.

Jeelang, S. M., Wang, M. P., Kumarg, S., Gupta, R. C., & Sgddgque, M. A. A. (2013). Ethnobotany of some polypetalous plants from the Kashmgr Hgmalaya. *J. Med. Plants Res*, 7(36), 2714-2721.

Johnson, J. L., & de Mejga, E. G. (2013). Interactgons between dgetary flavonogds apggengn or luteolgn and chemotherapeutgc drugs to potentgate antg-prolgferatgve effect on human pancreatgc cancer cells, gn vgtro. *Food and chem;cal tox;cology*, 60, 83-91.

Kala, C. P. (2006). Medgcgnal plants of the hggh altgtude cold desert gn Indga: dgversgty, dgstrgbutgon and tradgtgonal uses. *The Internat;onal Journal of B;od;vers;ty Sc;ence and Management*, 2(1), 43-56.

Kamisawa, T., Wood, L. D., Itoi, T., & Takaori, K. (2016). Pancreatic cancer. *The Lancet*, 388(10039), 73-85.

Khare, C. P. (2008). *Indian medicinal plants: an illustrated dictionary*. Springer Science & Business Media.

Kim, M. H. (2003). Flavonoids inhibit VEGF/bFGF-induced angiogenesis in vitro by inhibiting the matrix-degrading proteases. *Journal of cellular biochemistry*, 89(3), 529-538.

Kleyn, A. P. (2021). Pancreatic cancer epidemiology: understanding the role of lifestyle and inherited risk factors. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 18(7), 493-502.

Koç, M. & Hamzaoglu, E. (2015) *Bolanthus turcicus* (Caryophyllaceae), a new species from Turkey. *PhytoKeys* 52: 81–88.

Kocabaş N. (2008). Homosisteinin indüklediği oksidatif stres üzerinde quercetinin koruyucu etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya A.B.D. Afyonkarahisar

Koca, N. ve Karadeniz, F. (2005). Gıdalardaki doğal antioksidan bileşikler. *Gıda*, 30(4): 229-236.

Koç, M., Hamzaoglu, E., & Büyük, I. (2019). Morphological and molecular evidence for a new species of *Bolanthus* (Caryophyllaceae) from Turkey. *Systematic Botany*, 44(1), 189-196.

Komakech, R., Ygm, N. H., Shgm, K. S., Jung, H., Byun, J. E., Lee, J., Okello, D., Matsabgsa, M. G., Erhabor, J. O., Oyengh, O., Omujal, F., Agwaya, M., Kgm, Y. G., Park, J. H., & Kang, Y. (2022). Root extract of a micropropagated *Prunus africana* medicinal plant induced apoptosis in human prostate cancer cells (PC-3) via caspase-3 activation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022.

Korkuna L., & Kostyuk V. (2012). Biotechnologically produced secondary plant metabolites for cancer treatment and prevention. *Curr Pharm Biotechnol*, 13:265–75.

Korkmaz, M., & Özcelik, H. (2011). Economic importance of *Gypsophila* L., *Ankyropetalum fenzl* and *Saponaria* L. (Caryophyllaceae) taxa of Turkey. *African journal of Biotechnology*, 10(47), 9533-9541.

Krech, R. L., & Walsh, D. (1991). Symptoms of pancreatic cancer. *Journal of pain and symptom management*, 6(6), 360-367.

Kubitzki K, Rohrer JG, Bittner V (Eds.) (1993). The families and genera of vascular plants, Flowering plants, Dicotyledons, Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid families vol.2, Berlin: Springer; p.206–236.

Kumar, P., & Singh, V. K. (2013). Ethnobotany and Ethnomedicinal Uses, Chromosomal Status and Natural Propagation of Some Plants of Lahaul-Spiti and Jammu Hills. *Journal of Botany*.

- Kültür, Ş. (2007). Medicinal plants used in Kırklareli province (Turkey). *Journal of ethnopharmacology*, 111(2), 341-364.
- Lakmogh, H., Bakhtaoui, F. Z., Gadh, C. A., Ezoubeg, A., El Jah, Y., El Mansour, A., ... & Loutfi, K. (2010). Toxicity profile of the aqueous ethanol root extract of *Corriggola telephgfolga* pourr.(Caryophyllaceae) on rodents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011.
- Larsson, S. C., & Wolk, A. (2012). Red and processed meat consumption and risk of pancreatic cancer: meta-analysis of prospective studies. *British journal of cancer*, 106(3), 603-607.
- Lawrence, G. H. M. (1951). *Taxonomy of vascular plants*. Macmillan Company, New York, pp. 486-489.
- Lee, J., & Kim, J. H. (2016). Kaempferol inhibits pancreatic cancer cell growth and migration through the blockade of EGFR-related pathway in vitro. *PloS one*, 11(5), e0155264.
- Lee, S., Xgao, C., & Peg, S. (2008). Ethnobotanical survey of medicinal plants at peripheral markets of Honghe Prefecture in Yunnan Province, SW China. *Journal of Ethnopharmacology*, 117(2), 362-377.
- Lepcha, S. R., & Das, A. P. (2011). Ethno-medicinal-botanical exploration along the international borders to Tibet Autonomous Region of China and the kingdom of Bhutan with special reference to the Pangolakha Wildlife Sanctuary, East Sikkim. *East Asian Journal of Traditional Medicine*, 257, 270.
- Leto, C., Tuttolomondo, T., La Bella, S., & Lgata, M. (2013). Ethnobotanical study in the Madone Regional Park (Central Sicily, Italy) Medicinal use of wild shrub and herbaceous plant species. *Journal of ethnopharmacology*, 146(1), 90-112.
- Li, D., Morris, J. S., Liu, J., Hassan, M. M., Day, R. S., Bondy, M. L., & Abbruzzese, J. L. (2009). Body mass index and risk, age of onset, and survival in patients with pancreatic cancer. *Jama*, 301(24), 2553-2562.
- Li, G., Ding, K., Qiao, Y., Zhang, L., Zheng, L., Pan, T., & Zhang, L. (2020). Flavonoids regulate inflammation and oxidative stress in cancer. *Molecules*, 25(23), 5628.
- Lg, X., Xu, H., & Gao, P. (2018). ABO blood group and diabetes mellitus influence the risk for pancreatic cancer in a population from China. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 24, 9392-9398.
- Lg, X., Zhou, N., Wang, J., Lgu, Z., Wang, X., Zhang, Q., ... & Wang, R. (2018). Quercetin suppresses breast cancer stem cells (CD44+/CD24-) by inhibiting the PI3K/Akt/mTOR-signal pathway. *Life sciences*, 196, 56-62.
- Lgang, C. C., Park, A. Y., & Guan, J. L. (2007). In vitro scratch assay: a convenient and inexpensive method for analysis of cell migration in vitro. *Nature protocols*, 2(2), 329-333.

Lgao, W., Chen, L., Ma, X., Jgao, R., Lg, X., & Wang, Y. (2016). Protectgve effects of kaempferol agagnst reactgve oxygen specges-gnduced hemolysgs and gts antgprolgeratgve actgvgtg on human cancer cells. *European Journal of Med;c;n Timerstry*, 114, 24-32.

Lgu, Y., Gong, W., Yang, Z. Y., Zhou, X. S., Gong, C., Zhang, T. R., ... & Gao, Q. L. (2017). Quercetgn gnduces protectgve autophagy and apoptosgs through ER stress vga the p-STAT3/Bcl-2 axgs gn ovargan cancer. *Apoptos;s*, 22, 544-557.

Lgu, Z. J., Xu, W., Han, J., Lgu, Q. Y., Gao, L. F., Wang, X. H., & Lg, X. L. (2020). Quercetgn gnduces apoptosgs and enhances gemcgtabgne therapeutgc effgcacy agagnst gemcgtabgne-resgstant cancer cells. *Ant;-cancer drugs*, 31(7), 684-692.

Lucenteforte, E., La Vecchia, C., Silverman, D., Petersen, G. M., Bracci, P. M., Ji, B. A., ... & Duell, E. J. (2012). Alcohol consumption and pancreatic cancer: a pooled analysis in the International Pancreatic Cancer Case–Control Consortium (PanC4). *Annals of oncology*, 23(2), 374-382.

Luo, J. G., Wang, X. B., Ma, L., & Kong, L. Y. (2007). Gypsophgn: a novel α -glucosgdase gnhgbgtory cyclgc peptgde from the roots of Gypsophgla oldhamgana. *B;oorgan;c & med;c;n Timerstry letters*, 17(16), 4460-4463.

Majumdar, K., & Datta, B. K. (2007). A study on ethnomedgcgnal usage of plants among the folklore herbalgsts and Trgpurg medgcal practgtgoners: Part-II.

Malekg, S. J., Crespo, J. F., & Cabangllas, B. (2019). Antg-gnflammatory effects of flavonogds. *Food chem;stry*, 299, 125124.

Manandhar, N. P. (1993). Ethnobotangcal note on folk lore remedies of Baglung dgstrgct Nepal. *Contr;but;ons to Nepalese Stud;es*, 20(2), 183-196.

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Révész, C. ve Jiménez L. (2004). Polyhenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5): 727-747.

Manchester, K. L. (1996). Use of UV methods for measurement of protein and nucleic acid concentrations. *Biotechniques*, 20(6), 968-970.

Manju, K., Jat, R. K., & Anju, G. (2012). A review on medicinal plants used as a source of anticancer agents. *International Journal of Drug Research and Technology*, 2(2), 177-183.

Manzoor, M., Khan, A. H. A., Ullah, R., Khan, M. Z., & Ahmad, I. (2016). Envgronmental epgdemgology of cancer gn South Asgan populatgon: rgsk assessment agagnst exposure to polycyclgc aromatgc hydrocarbons and volatgle organgc compounds. *Arab;an Journal for Sc;ence and Eng;neer;ng*, 41, 2031-2043.

Marques, S. M., Šupolíková, L., Molčanová, L., Šmejkal, K., Bednar, D., & Slaninová, I. (2021). Screening of natural compounds as P-glycoprotein inhibitors against multidrug resistance. *Biomedicines*, 9(4), 357.

Martini F.H., Nath. J. L., Bartholomew E.F. (2017). *Fundamentals of Anatomy & Physiology*, Pearson Education.

McGuggan, A., Kelly, P., Turkington, R. C., Jones, C., Coleman, H. G., & McCagn, R. S., (2018), Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes. *World journal of gastroenterology*, 24(43), 4846–4861.

McMenamin, U. C., McCagn, S., & Kunzmann, A. T. (2017). Do smoking and alcohol behaviours influence GI cancer survival? *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 31(5), 569-577.

Metcalfe, C. R., & Chalk, L. (1950). Anatomy of the Dicotyledons: leaves, stem, and wood, in relation to taxonomy, with notes on economic uses. Oxford: Clarendon Press, 147–53.

Mgdha, S., Chawla, S., & Garg, P. K. (2016). Modifiable and non-modifiable risk factors for pancreatic cancer: A review. *Cancer letters*, 381(1), 269-277.

Modi, B., & Shires, G. T. (2020). Pancreatic cancer, cystic pancreatic neoplasms, and other nonendocrine pancreatic tumor. In: Feldman M, Friedman L, Brandt L, editors. *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*, 11th ed. Chapter 60. Philadelphia: Elsevier; pp. 947–965.

Mohammed, M. J., & Al-Bayat, F. A. (2009). Isolation and identification of antibacterial compounds from *Thymus kotschyanus* aerial parts and *Dianthus caryophyllus* flower buds. *Phytotherapy Research*, 16(6-7), 632-637.

Mohana, S., Ganesan, M., Rajendra Prasad, N., Ananthakrishnan, D., & Velmurugan, D. (2018). Retracted Article: Flavonoids modulate multidrug resistance through wnt signaling in P-glycoprotein overexpressing cell lines. *BMC cancer*, 18(1), 1-11.

Motetee, A., & Van Wyk, B. E. (2011). The medicinal ethnobotany of Lesotho: a review. *Bothalia*, 41(1), 209-228.

Mothana, R. A. A., Gruenert, R., Bednarski, P. J., & Linderquist, U. (2009). Evaluation of the in vitro anticancer, antimicrobial and antioxidant activities of some Yemeni plants used in folk medicine. *Drug Research - An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 64(4), 260-268.

Mukherjee, S., & Patra, C. R. (2016). Therapeutic application of anti-angiogenic nanomaterials in cancers. *Nanoscale*, 8(25), 12444-12470.

Nabat, F., Mojab, F., Habibi-Rezaei, M., Bagherzadeh, K., Amanlou, M., & Yousefi, B. (2012). Large scale screening of commonly used Iranian traditional medicinal plants against urease activity. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20, 1-9.

Organization WH. World Cancer Report 2014. Accessed 06 October 2018.

Ovags, M., Khalil, A. T., Raza, A., Khan, M. A., Ahmad, I., Islam, N. U., ... & Shahnawaz, Z. K. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles via plant extracts: beginning a new era in cancer therapeutics. *Nanomedicine*, 12(23), 3157-3177.

Özcelik, H. (2024). A new species from Turkey: *Bolanthus sertavulus* (Caryophyllaceae). *Anatolian Journal of Botany*, 8(1), 16-20.

Özdemir, C., Özkan, M., & Kandemir, A. (2010). The morphological and anatomical properties of *Gypsophila lepidoglossa* Boiss. (Caryophyllaceae) endemic to Turkey. *International Research Journal of Plant Science*, 1(4), 69-74.

Özhatay, N., & Kültür, Ş. (2006). Check-list of additional taxa to the Supplement Flora of Turkey III. *Turkish Journal of Botany*, 30(4), 281-316.

Özhatay, N., Kültür, Ş. & Aksoy, N. (1999) Check-list of additional taxa to the supplement Flora of Turkey II. *Turkish Journal of Botany* 23: 151–169.

Özhatay, N., Kültür, Ş., Aslan, S. (2009) Check-list of additional taxa to the Supplement Flora of Turkey IV. *Turkish Journal of Botany*, 33, 191-226.

Özhatay, N., Kültür, Ş., Gürdal, M.B. (2011). Check-list of additional taxa to the Supplement Flora of Turkey V. *Turkish Journal of Botany*, 35, 589-624, 2011.

Parekh, N., Garg, A., Choudhary, R., Gupta, M., Kaur, G., Ramniwas, S., ... & Sethi, G. (2023). The Role of Natural Flavonoids as Telomerase Inhibitors in Suppressing Cancer Growth. *Pharmaceuticals*, 16(4), 605.

Parkin, D. M., Boyd, L. & Walker, L. C. (2011). The fraction of cancer attributable to lifestyle and environmental factors in the UK in 2010. *British Journal of Cancer*, 105(2), 77-81.

Patra, C. R., Mukherjee, S., & Kotcherlakota, R. (2014). Biosynthesized silver nanoparticles: a step forward for cancer theranostics? *Nanomedicine*, 9(10), 1445-1448.

Pax, F. (1934). Caryophyllaceae. *Die natürlichen Pflanzenfamilien Bd.*, 275-367.

Pellegrini, N., Miglio, C., Del Rio D. ve diğerleri. (2009). Effect Of Domestic Cooking Methods On The Total Antioxidant Capacity Of Vegetables. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60 (Suppl 2):12-22.

Phytos, D. (1997) *Bolanthus* (Ser.) Rchb. In: Phytos, D. & Strgđ, A. (Eds.) *Flora Hellenica*, vol. 1. Koeltz scientifical books, Germany, pp. 325–329.

Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 63(7), 1035-1042.

Pittman, M. E., Rao, R., & Hruban, R. H. (2017). Classification, morphology, molecular pathogenesis, and outcome of premalignant lesions of the pancreas. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 141(12), 1606-1614.

Plantarum Orientalium, Paris, s. 42-43.

Predebon, M. J., Bond, D. R., Brzozowski, J., Jankowski, H., Deane, F., Tarleton, M., ... & Scarlett, C. J. (2019). The Biosynthesized Dergvatgve 3, 7-Bis-[2-(S)-amino-3-(1 H-indol-3-yl)-propionyl]-1, 5-diphenyl-3, 7-diazabicyclo [3.3. 1] nonan-9-one Dihydrochloride Induces an Apoptosis-Mediated Cytotoxic Effect on Pancreatic Cancer Cells In Vitro. *Molecules*, 24(3), 524.

Pullagah T. (2006). Encyclopedga of world medgcgnal plants, Vol. 1, Daya books, New Delhg, p. 198

Qgan, A. R., Lg, D., Han, J., Gao, X., Dg, S. M., Zhang, W., & Shang, P. (2012). Fractal dgmensgon as a measure of altered actgn cytoskeleton gn MC3T3-E1 cells under sgmulated mgcrogravgty usgng 3-D/2-D clgnostats. *IEEE Transact;ons on B;omed;cal Eng;neer;ng*, 59(5), 1374-1380.

Rabeler, R. K., & Bittrich, V. (1993). Suprageneric nomenclature in the Caryophyllaceae. *Taxon*, 857-863.

Rahman, N., Khan, H., Zia, A., Khan, A., Fakhri, S., Aschner, M., ... & Saso, L. (2021). Bcl-2 modulation in p53 signaling pathway by flavonoids: a potential strategy towards the treatment of cancer. *International journal of molecular sciences*, 22(21), 11315.

Raimondi, S., Lowenfels, A. B., Morselli-Labate, A. M., Maisonneuve, P., & Pezzilli, R. (2010). Pancreatic cancer in chronic pancreatitis; aetiology, incidence, and early detection. *Best practice & research Clinical gastroenterology*, 24(3), 349-358.

Reddy, A. R. K., & Grace, J. R. (2016). Antgcancer actgvgtgty of methanolgc extracts of selected mangrove plants. *Internat;onal journal of pharmaceut;cal sc;ences and research*, 7(9), 3852.

Reeve, H. Dganthus L. Edgtör: Davgs, P. H. (1967). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edgnburgh: Edgnburgh Ungversgty Press, 2: 99–131.

Regchenbach, H. G. L. (1841). Der deutsche Botanker. Das Herbargenbuch. Dresden und Legpzgg: gn der Arnoldgschen Buchhandlung, 136.

Regnecke, M. G., & Zhao, Y. Y. (1988). Phytochemgcal studegs of the Chgnese herb tag-zg-shen, Pseudostellarga heterophylla. *Journal of Natural Products*, 51(6), 1236-1240.

Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., & Zhang, L. (2003). Flavonoids: promising anticancer agents. *Medicinal research reviews*, 23(4), 519-534.

Rgsch, H. A., Lu, L., Wang, J., Zhang, W., Ng, Q., Gao, Y. T., & Yu, H. (2013). ABO blood group and rgsk of pancreatgc cancer: a study gn Shanghag and meta-analysgs. *Amer;can journal of ep;dem;ology*, 177(12), 1326-1337.

Rizzato, C., Campa, D., Giese, N., Werner, J., Rachakonda, P. S., Kumar, R., ... & Canzian, F. (2011). Pancreatic cancer susceptibility loci and their role in survival. *PloS one*, 6(11), e27921.

Ryan, D. P., Hong, T. S., & Bardeesy, N. (2014). Pancreatic adenocarcinoma. *New England Journal of Medicine*, 371(11), 1039-1049.

Sasakg, N., Gomg, F., Hasegawa, F., Hgrano, K., Fujgwara, M., Toyoda, M., & Ishgwata, T. (2020). Charactergzatgon of the metastatgc potentgal of the floatgng cell component of MIA PaCa-2, a human pancreatgc cancer cell lgne. *B;ochem;cal and B;ophys;cal Research Commun;cat;ons*, 522(4), 881-888.

Sharangg A.B. (2017). Secondary Metabolites in Spices and Medicinal Plants: An Overview. In: Siddiqui MW, Bansal V, Prasad K, editors. *Plant Secondary Metabolites*. Florida, US: Apple Academic Press, pp.163–88.

Shih, H. P., Wang, A., & Sander, M. (2013). Pancreas organogenesis: from lineage determination to morphogenesis. *Annual review of cell and developmental biology*, 29, 81-105.

Shahwari, M. I., & Khan, M. A. (2000). Folk use of medicinal herbs of Margalla hills national park, Islamabad. *Journal of ethnopharmacology*, 69(1), 45-56.

Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2016). Cancer statistics, 2016. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 66, 7-30.

Singer, H. E. (1932). The Historical Development of the Pathology and Therapy of Cancer. *Bulletin of the New York Academy of Medicine*, 8(11), 642-653.

Simpson, Michael G. (2012) *Plant Systematics*, s. 492-494, Ankara, Nobel Yayınları, 2. Baskıdan Çeviri.

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

Smgna, T. P., Ngtha, B., Devasagayam, T. P. A., & Janardhanan, K. K. (2016). Ganoderma lucidum total triterpenes induce apoptosis in MCF-7 cells and attenuate DMBA induced mammary and skin carcinomas in experimental animals. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 813, 45-51.

Society AC. Global Cancer Facts & Figures (3rd Edition)). American Cancer Society. www.cancer.org

Sönmez, G. D. (2023). Evaluation of the phytochemical properties and dna protective activity of *Bolanthus ortegioides* (Fisch. and Ca Mey.) Madhani and Rabaler. *Japs: Journal of Animal & Plant Sciences*, 33(2).

Strouch, M. J., Mglam, B. M., Melstrom, L. G., McGill, J. J., Salabat, M. R., Ujkg, M. B., ... & Bentrem, D. J. (2009). The flavonoid apigenin potentiates the growth inhibitory effects of gemcitabine and abrogates gemcitabine resistance in human pancreatic cancer cells. *Pancreas*, 38(4), 409-415.

Suarez-Arnedo, A., Figueroa, F. T., Clavijo, C., Arbeláez, P., Cruz, J. C., & Muñoz-Camargo, C. (2020). An image J plugin for the high throughput image analysis of in vitro scratch wound healing assays. *PloS one*, 15(7), e0232565.

Sumagra, Y., Agman, Y., & Mohammad, A. (2008). Cytogenetological pattern of ovarian tumours in Peshawar region.

Sun, Z. L., Dong, J. L., & Wu, J. (2017). Juglans induces apoptosis and autophagy in human breast cancer progression via ROS/JNK promotion. *Biomolecules & Pharmacotherapy*, 85, 303-312.

Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209-249.

Swadlow-Gregg, A. K., Gomez-Chou, S. B., Cruz-Monserrate, Z., Deng, D., Liu, Y., Huang, H., ... & Logsdon, C. D. (2017). Chronic inflammation promotes multiple forms of K-Ras-independent mouse pancreatic cancer in the absence of TP53. *Oncogene*, 36(22), 3149-3158.

T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2018: 43.

Talib, W. H., & Mahasneh, A. M. (2010). Antiproliferative activity of plant extracts used against cancer in traditional medicine. *Scientia pharmaceutica*, 78(1), 33-45.

Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of food composition and analysis*, 19(6-7), 669-675.

Vaccaro, V., Gelibter, A., Bria, E., Iapicca, P., Cappello, P., Di Modugno, F., ... & Milella, M. (2012). Molecular and genetic bases of pancreatic cancer. *Current Drug Targets*, 13(6), 731-743.

Vagstad, B., Chopra, B. S., Raut, S., Sagar, A., Badmalga, M. D., & Khatrg, N. (2020). Antioxidant and wound healing property of gelsolin in 3T3-L1 cells. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020.

Vardhana, R. (2008). *Direct uses of medicinal plants and their identification*. Sarup & Sons.

Von Hoff, D. D. (2018). Chapter 79: Pancreatic cancer. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 20th ed. McGraw-Hill, New York, 591-596.

Wang, B., Wang, W., Meng, H. Y., Chen, J., & Yuan, L. J. (2019). Effects and mechanism of ginseng A on the growth and apoptosis of MgaPaCa-2 cancer cells. *Oncology Letters*, 18(3), 2869-2876.

Wang, F., Wang, L., Qu, C., Chen, L., Geng, Y., Cheng, C., ... & Chen, Z. (2021). Kaempferol induces ROS-dependent apoptosis in pancreatic cancer cells via TGM2-mediated Akt/mTOR signaling. *BMC cancer*, 21, 1-11.

Wang, L., Lee, I.M., Zhang, S.M., Blumberg, J.B., Buring, J.E., Sesso, H.D. (2009). Dietary intake of selected flavonols, flavones, and flavonoid-rich foods and risk of cancer in middle-aged and older women. *Am. J. Clin. Nutr.*, 89(3): 905-912.

Weston, L. A., & Mathesius, U. (2013). Flavonoids: their structure, biosynthesis and role in the rhizosphere, including allelopathy. *Journal of chemical ecology*, 39, 283-297.

Wgart, C. (2012). *Med;c;nal plants of Ch;na, Korea, and Japan: b;oresources for tomorrow's drugs and cosmet;cs*. CRC press.

Wgllgams, F. N. (1889). A revgsgon of the genus Gypsophgla L. *Journal of Botany Br;t;sh and Fore;ng*, 27, 321-329.

Wolfgang, C. L., Herman, J. M., Laheru, D. A., Klein, A. P., Erdek, M. A., Fishman, E. K., & Hruban, R. H. (2013). Recent progress in pancreatic cancer. *CA: A Cancer Journal For Clinicians*, 63(5), 318-348.

World Health Organgzatgon (WHO). Pancreas. Global Cancer Observatory 2020; 1– 2.

Wörmann, S. M., & Algül, H. (2013). Risk factors and therapeutic targets in pancreatic cancer. *Frontiers in oncology*, 3, 282.

Yıldız, B., & Aktoklu, E. (2010). *B;tk; S;stemat;ğ*. Palme yayıncılık, s. 220– 223, Ankara.

Yildiz, G. (2021a). The Effect of High Intensity Ultrasound Pre- treatment on the Functional Properties of Microwave-dried Pears (*Pyrus communis*). *Latin American Applied Research Journal*, 51(2):133-137.

Yildiz, G. ve İzli, G. (2022, pp. 1-22). The Effects of Drying Process on Bioactive Compounds of Fruits and Vegetables in Bioactive compounds and their importance. Nova Science Publishers, Inc., New York, USA. ISBN: 978-1-68507-361-9.

Yıldızbaş, A. (2017). Türkgye'de yayılış gösteren Bolanthus (Ser.) Rechb. cngsngngn revgzyonu. Yüksek Lgsans Tezg. Yozgat Bozok Ünversgtesg Fen Bglgmrlerg Enstgtüsü, Yozgat.

You, W., & Henneberg, M. (2018). Cancer gncgdence gncreasng globally: The role of relaxed natural selectgon. *Evolut;onary appl;cat;ons*, 11(2), 140-152.

Youn, J. S., Kgm, Y. J., Na, H. J., Jung, H. R., Song, C. K., Kang, S. Y., & Kgm, J. Y. (2019). Antgoxgdant actgvgt; and contents of leaf extracts obtagned from Dendropanax morbgfera LEV are dependent on the collectng season and extractgon condgtgons. *Food sc;ence and b;otechnology*, 28, 201-207.

Zhang, Q., Cheng, G., Qgu, H., Zhu, L., Ren, Z., Zhao, W., ... & Lgu, L. (2015). The p53-gnducgble gene 3 gnvolved gn flavonogd-gnduced cytotoxgcgt; through the reactgve oxygen specges-medgated mgtochondrgal apoptotgc pathway gn human hepatoma cells. *Food & Funct;on*, 6(5), 1518-1525.

Zhao, Y., Guo, Q., Zhu, Q., Tan, R., Bag, D., Bu, X., ... & Lu, N. (2019). Flavonogd VI-16 protects agagnst DSS-gnduced colgtgs by gnhgbgtgng Txngp-dependent NLRP3 gnflammasome actgvatgon gn macrophages vga reducngng oxgdatgve stress. *Mucosal ;mmunology*, 12(5), 1150-1163.

Zhao, Z., & Lgu, W. (2020). Pancreatgc cancer: a revgew of rgsk factors, dgagnosgs, and treatment. *Technology ;n cancer research & treatment*, 19, 1533033820962117.

Zhigshen, J., Mengcheng, T., Jganmgng, W. (1999). The determination of flavonoid contents in Mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem, 64: 555-559.



8. EKLER

• ÖZGEÇMİŞ

1. **Adı Soyadı:** Derya ALTAY
2. **İletişim Bilgileri**

Uluslararası Araştırmacı ID'leri ORCID: 0000-0002-7415-1595

3. **Unvanı:** Biyolog
4. **Öğrenim Durumu:** Doktora

Derece	Alan	Üniversite	Bitirme Yılı
Lisans	Biyoloji	Bozok Üniversitesi	2013
Yüksek Lisans	Biyoloji	Bozok Üniversitesi	2017
Doktora	Geleneksel Tamamlayıcı ve Entegratif Tıp	Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi	2024

5. Yabancı Diller

1. İngilizce, B2 Orta Seviye

6. Yaptığı Tezler

- 6.1. Yüksek Lisans, Bazı Türkiye *Dianthus* L. (Caryophyllaceae) Taksonları Üzerine Karyolojik Çalışmalar, Bozok Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, 2017
- 6.2. Doktora, *Bolanthus turcicus* Koç & Hamzaoglu ve yakın türlerinin taksonomisi,

fitokimyasal içeriği ile pankreas kanser hücre hattı üzerindeki etkilerinin araştırılması, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Halk Sağlığı Enstitüsü, Biyoterapötik Ürünler Araştırma ve Geliştirme Doktora Programı. 2019- 2024

7. Yayınlar

7.1. Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

1. Altay, D., Eroğlu, H.E., Hamzaoglu, E. & Koç, M. 2017. Karyotype analysis of some taxa of *Dianthus* section *Verruculosi* (Caryophyllaceae, Sileneae). *Turkish Journal of Botany* 41: 367-374. (SCI)
2. Eroğlu, H.E., Doğan, H., Altay, D. & Budak, Ü. 2017. The medicinal plant of genus *Paronychia* and the karyotype analysis of *Paronychia adalia*. *International Journal of Secondary Metabolite* 4(3): 103-107.
3. Eroğlu, H.E., Altay, D., Budak, Ü. & Martin, E. 2020. Karyotypic phylogeny and polyploidy variations of *Paronychia* (Caryophyllaceae) taxa in Turkey. *Turkish Journal of Botany* 44: 245-254.
4. Eroğlu, H.E., Altay, D., Budak, Ü., Martin, E. 2021. Karyotype Analysis of Two Varieties of *Paronychia amani* (Caryophyllaceae, Paronychioideae). *Journal of the Institute of Science and Technology*, 11(3): 1809-1816.
5. Doğan, H., Eroğlu, H. E., Şenkal, B. Ç., Cesur, C., Uskutoğlu, T., Özkan, U., & Altay, D. (2018). The detailed chromosome measurements and B-chromosomes in *Salvia virgata*. *Acta Biologica Turcica*, 32(2), 74-77.

7.2. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceeding) basılan bildiriler.

1. Eroğlu, H.E., Doğan, H., Altay, D. & Budak, Ü. 2017. The medicinal plant of genus *Paronychia* and the karyotype analysis of *Paronychia adalia*. 1st International Congress on Medicinal and Aromatic Plants: 228. Konya.
2. Eroğlu, H.E., Altay, D., Budak, Ü., Martin, E. 2018. *Paronychia turcica* Türünün Karyotip Analizi. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences. Ankara.
3. Eroğlu, H.E., Altay, D., Budak, Ü., Martin, E. 2018. *Paronychia* Cinsinde Yeni Kromozomal Veriler ve Poliploidi Varyasyonları. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences. Ankara.

4. Altay, D., Koç, M. 2022. Comparison of Total Phenolic and Total Flavonoid Contents of Different Solvent Extracts of *Achillea sintenisii* and *Centaurea depressa*. 3. Uluslararası Bitki Biyolojisi Kongresi, Rize, Türkiye.
5. Altay, D., Koç, M. 2022. Investigation of Morphological and Anatomical characteristics of *Bolanthus turcicus* Koç & Hamzaoglu grown in Turkey. 3. Uluslararası Bitki Biyolojisi Kongresi, Rize, Türkiye.
6. Alhadran R., Keles G., Cevher S. C., Altay, D., Aslan Erdem S., Soylemez S., Cirpan A., Toppare L., Kurbanoglu S., 2023. A Novel Electrochemical Tyrosinase Biosensor for the Monitoring Inhibition of Rosmaniric Acid from Plants. 33rd International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Ankara, Türkiye.

7.3. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan bildiri kitabında basılan bildiriler

1. Koca, İ., Eroğlu, H.E., Babaarslan, D. & Şahin, E. 2014. Furo[3,2-c]piran-4-on Türevi Bileşiklerinin Sentezi ve Bu Bileşiklerin İnsan Lenfosit Kültürlerinde Sitogenetik Etkileri. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi: 1260. Eskişehir.
2. Babaarslan, D. & Eroğlu, H.E. 2014. Dünden Bugüne Bitkilerde Simetri Asimetri İndeksleri. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi: 606. Eskişehir.
3. Babaarslan, D., Eroğlu, H.E., Koç, M. & Hamzaoglu E. 2015. *Dianthus cyri* (Caryophyllaceae) Türünün Karyotip Analizi. 1. Ulusal Bitki Biyolojisi Kongresi. 237. Bolu.
4. Babaarslan, D., Eroğlu, H.E., Koç, M. & Hamzaoglu E. 2015. *Dianthus strictus* var. *axilliflorus* Taksonunun Farklı Lokalitelerden Karyotip Analizi. 1. Ulusal Bitki Biyolojisi Kongresi. 238. Bolu.

8. Projeler

1. Eroğlu, H.E & Babaarslan, D. Bazı Türkiye *Dianthus* L. Taksonlarının Karyotip Analizi. Bozok Üniversitesi BAP. Proje No: 2015FBE/T184. (Tamamlandı) (21.07.2015 – 14.03.2017).
2. Altay, D., Koç, M. *Bolanthus turcicus* Koç & Hamzaoglu ve yakın türlerinin taksonomisi, fitokimyasal içeriği ile pankreas kanser hücre hattı üzerindeki etkilerinin

araştırılması. Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi BAP. Proje No: TDK-2022-2303 (Devam ediyor) (28.03.2022 – 28.03.2024).

9. Sertifikalar, Kurs ve Eğitimler

1. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası. Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp ve Araştırma Merkezi. 2021. Konya

8. Getat Klinik Araştırmaları Etik Yaklaşım Kursu, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, 2019. Ankara

9. Pedagogik Formasyon Eğitimi Sertifika Programı, Bozok Üniversitesi, 2015. Yozgat

10. Yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) Eğitim Sertifikası, 2022. Ankara

10. Ödüller

1. Bozok Üniversitesi 2013 dönemi Bölüm, Fakülte ve Üniversite birinciliği (lisans düzeyinde).