

Mevcut sayıya ait içindekiler listesine [DergiPark](#) üzerinden ulaşılabilir

Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi

Dergi web sayfası: dergipark.org.tr/tr/pub/sufefd

Araştırma Makalesi

Lathyrus czechottianus Bässler Farmakolojide Doğal Antimutajenik Ajanların Yeni Kaynağı Olabilir mi? Mutajenik/Antimutajenik ve Antimikrobiyal Açından Değerlendirme

Mustafa Kul^{a,1}, Ahmet Uysal^{a,2*}^a Selçuk Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, 42130, KONYA, TÜRKİYE

MAKALE BİLGİSİ

Makale Geçmişi

Geliş 30 Nisan 2024

Revizyon 15 Mayıs 2024

Kabul 27 Mayıs 2024

Anahtar Kelimeler

Antimikrobiyal aktivite

Antimutajenite

Ames test

Lathyrus czechottianus

Mutajenite

ÖZ

Bu çalışmada, *Lathyrus czechottianus* bitkisinin toprak üstü kısımlarına ait metanol ve su özütlерinin mutajenite/antimutajenite ve antimikrobiyal özellikleri araştırılmıştır. Özütlерin toksik doz belirlemeleri yapıldıktan sonra, Ames testi (*Salmonella*/mikrozom) ile mutajenik özellikleri değerlendirilmiştir. *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 suşları ile yapılan mutajenite çalışmaları metabolik aktivasyon varlığı ve yokluğunda gerçekleştirilmiştir. Metanol ve su özütleri 10000, 5000 ve 1000 µg/plak dozlarda herhangi mutajenik etki göstermemiştir. Bilinen mutajenik maddelere karşı antimutajenik inhibisyon oranları değerlendirilmiştir. Buna göre metanol ve su özütleri özellikle TA98 suşu için 2-aminofloren S9 karışımı varlığında etkisini sırasıyla %73 ve %85 oranlarda en yüksek dozlarda inhibe etmiştir. Ayrıca metanol özütlü TA100 suşu için S9 varlığında 2-aminoantrasenin etkisini %78'lere varan düzeyde iyileştirmiş ve güçlü antimutajenite göstermiştir. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları ise sekiz standart mikroorganizma ve 14 metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* izolata karşı sıvı mikro dilüsyon yöntemiyle test edilmiştir. Metanol ve su özütleri test edilen mikroorganizmalara karşı 12.5 ve 6.25 mg/ml dozlarda düşük antimikrobiyal aktivite ortaya koymuştur. *L. czechottianus* özütlерinin kimyasallara karşı kemopreventif doğal bir ajan olarak kullanılabilеceği düşünülmüştür.

Research Article

Can *Lathyrus czechottianus* Bässler Be a New Source of Natural Antimutagenic Agents in Pharmacology? Evaluation from Mutagenic/Antimutagenic and Antimicrobial Perspectives

ARTICLE INFO

Article History

Received 30 April 2024

Revised 15 May 2024

Accepted 27 May 2024

Keywords

Antimicrobial activity

Antimutagenicity

Ames test

Lathyrus czechottianus

Mutagenicity

ABSTRACT

In this study, the mutagenicity/antimutagenicity and antimicrobial properties of methanol and water extracts of the aerial parts of the *Lathyrus czechottianus* plant were investigated. After toxic dose determinations of the extracts were made, their mutagenic properties were evaluated by the Ames test (*Salmonella*/microsome). Mutagenicity studies with *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 strains were performed in the presence and absence of metabolic activation. Methanol and water extracts did not show any mutagenic effects at doses of 10000, 5000 and 1000 µg/plate. Antimutagenic inhibition rates against well-known mutagenic substances were evaluated. Accordingly, methanol and water extracts inhibited the effect of 2-aminofluorene at the highest doses in the presence of the S9 mixture by 73% and 85%, respectively, especially for the TA98 strain. In addition, methanol extract improved the effect of 2-aminoanthracene up to 78% in the presence of S9 for the TA100 strain and showed strong antimutagenicity. Antimicrobial activity studies were tested using the broth microdilution method against eight standard microorganisms and 14 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates. Methanol and water extracts revealed low antimicrobial activity against the tested microorganisms at doses of 12.5 and 6.25 mg/ml. It was thought that *L. czechottianus* extracts could be used as a natural chemo preventive agent against chemicals. This study is the first report on genotoxicity and antimicrobial properties on *L. czechottianus*.

* Sorumlu Yazar

E-posta adresleri: mkul@selcuk.edu.tr (M. Kul), ahuyosal@selcuk.edu.tr (A. Uysal)

¹ ORCID: 0000-0002-9170-5094² ORCID: 0000-0002-9297-4050Doi: [10.35238/sufefd.1475894](https://doi.org/10.35238/sufefd.1475894)

E-ISSN: 2458-9411

Atıf / Cite as

Kul, M., Uysal, A., (2024), *Lathyrus czechottianus* Bässler Farmakolojide Doğal Antimutajenik Ajanların Yeni Kaynağı Olabilir mi? Mutajenik/Antimutajenik ve Antimikrobiyal Açıdan Değerlendirme, *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 50 (2), 35-42.

Makale Bilgisi Article Information

Makale Türü Article Type

Araştırma Makalesi Research Article

Geliş Tarihi Date Received

30 Nisan 2024 30 April 2024

Revizyon Tarihi Date Revised

15 Mayıs 2024 15 May 2024

Kabul Tarihi Date Accepted

27 Mayıs 2024 27 May 2024

Yayın Tarihi Date Published

1 Ekim 2024 1 October 2024

Değerlendirme Review Process

İki Dış Hakem, Çift Taraflı Körleme Two External Reviewers, Double-Blind Peer Review

Etik Beyan Ethical Statement

Bu çalışmanın hazırlanma sürecinde bilimsel ve etik ilkelere uyulduğu ve yararlanılan tüm çalışmaların kaynakçada belirtildiği beyan olunur (A. Uysal). It is declared that scientific and ethical principles have been followed while carrying out and writing this study and that all the sources used have been properly cited (A. Uysal).

İntihal Kontrolü Plagiarism Check

Bu makale, iTenticate yazılımı ile taranmış ve intihal tespit edilmemiştir. This article has been scanned with iTenticate software and no plagiarism detected.

Çıkar Çatışması Conflict of Interest

Yazarlar, bu makalede bildirilen çalışmayı etkiliyor gibi görünebilecek bilinen hiçbir rakip mali çıkarları veya kişisel ilişkileri olmadığını beyan ederler. The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Finansman Funding

-

Telif Hakkı & Lisans Copyright and License

Yazarlar dergide yayınlanan çalışmalarının telif hakkına sahiptirler ve çalışmaları CC BY-NC 4.0 lisansı altında yayımlanmaktadır. Authors own the copyright of their work published in the journal and their work is published under the CC BY-NC 4.0 license.

1. Giriş

Bitkiler yüzyıllardır insanlık tarafından kullanılmaktadır ve çeşitli uygulamalarla birlikte (örneğin gıda kaynağı, giyim üretimi için hammaddeler, barınak yapımı veya sadece dekorasyon), bitkisel ilaç olarak kullanımları insanoğlunun bildiği en eski sağlık hizmetlerinden biridir. (Veiga ve ark., 2020). Tıbbi bitki kavramı, belirli bir bozukluğu önlemek veya iyileştirmek için terapötik bir tedavide doğrudan veya dolaylı olarak kullanılmasına izin veren farmakolojik olarak aktif bileşenlere sahip olmasıyla karakterize edilir. Bitkiler ile ilgili yapılan çalışmaların odağında, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antitümöral, antidiyabetik, antiviral ve antioksidan etkilere neden olabilecek tıbbi özelliklerin karakterize edilmesi yer almaktadır (Roleira ve ark., 2015). Bu özellikler bu bitkilerin kimyasal bileşimi ile ilgilidir. Tıpta yaygın olarak kullanılan ilaçların birçoğu bitkisel kökenlidir ve faydalı etkilerinin sekonder metabolit olarak adlandırılan terpenoidler, alkaloidler, flavonoidler, fenolikler gibi çeşitli farklı bileşiklerin varlığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü, dünya nüfusunun %80'inden fazlasının temel sağlık ihtiyaçlarını karşılamak için bitkileri kullanan geleneksel tıba güvendiğini tahmin etmektedir (WHO, 2013). Bu anlamda bitkisel kaynaklı ürünler sağlığı koruyucu faktör olarak önemli bir role sahiptir.

Dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de bitkiler halk arasında tedavi, yem, gıda, boya, kozmetik, oyun vb. alanlarda kullanılmaktadır. Modern tıpta kullanılan ilaçlar ve Anadolu'da yaygın olarak kullanılan halk hekimliği ilaçları bitkilerden elde edilmektedir. Ülkemizin jeopolitik konumu, üç tarafının denizlerle çevrili olması ve Asya ile Avrupa arasında köprü vazifesi yapması bitki florası açısından zenginlik oluşturmaktadır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Dolayısıyla ile yeni fitoterapötik ajanların keşfedilmesi için önemli bir alandır.

Mutasyonları tetikleyebilen maddelerin tanımlanması güvenlik değerlendirmesinde önemli bir prosedür haline gelmiştir. Mutasyonlara neden olabilen kimyasallar potansiyel olarak üreme hattına zarar vererek doğurganlık sorunlarına ve gelecek nesillerde mutasyonlara yol açabilir. Mutajenik kimyasallar aynı zamanda kanseri tetikleme kapasitesine sahiptir ve bu endişe, mutajenite test programlarının çoğunu yönlendirmiştir. Mutasyonlar; 1. Yalnızca tek bir bazın değiştirildiği, 2. Bir veya nispeten birkaç bazın eklendiği, silindiği gen (nokta) mutasyonları, 3. DNA'da büyük silinmeler veya yeniden düzenlemeler, 4. Kromozom kırılmaları, 5. Tüm kromozomların kazanımı veya kaybı olarak meydana gelebilir (Mortelmans ve Zeiger, 2000).

İn vivo ve in vitro çalışmalarda bitki bileşenleri veya özleri de dâhil olmak üzere bu tür doğal materyallerin, antimutajenik etkiler gösterdiği ve sorumlu çeşitli enzimatik aktiviteleri inhibe ettiği bilinmektedir. Bu nedenle bu bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin araştırılması ve belirlenmesi birçok insan hastalığının tedavisinde önemli bir strateji haline gelmiştir. Deney hayvanlarının kullanıldığı çalışmaların pahalı olması ve uzun zaman alması nedeniyle başlangıç test sistemi olarak bakteriyel test sistemleri tercih edilmiştir (Gulluce ve ark., 2010).

Antibiyotikler bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede yaygın olarak kullanılmakta ve keşfedildikleri günden bu yana insan sağlığı ve yaşam kalitesi açısından son derece etkili olmaktadır. Ancak son yıllarda antibiyotiklere karşı direncin ortaya çıkması ve bunların tüketimi sonucu ortaya çıkan bazı toksik ürünler nedeniyle antibiyotikler bazı hastalıklara karşı daha az etkili hale gelmiştir.

Antimikrobiyallerin gereksiz yere reçete edilmesi ve bunların tarımda kullanılması gibi birçok faktör antimikrobiyal direncinin yayılmasına katkıda bulunurken, antimikrobiyal geliştirmedeki bilimsel ve ekonomik zorluklar, yeni ilaçların üretim hattının azalmasına neden olmuştur. Bu nedenle doğal kaynaklardan elde edilen antibakteriyel ajanlar enfeksiyon hastalıklarının önlenmesinde ve tedavisinde önemli rol oynamaya başlamıştır. Bitki özleri, çiğ ve işlenmiş gıdaların korunması, farmasötikler, alternatif tıp ve doğal tedaviler dahil olmak üzere birçok uygulamanın kaynağı olarak yerleşmiştir (Heydari ve ark., 2019; Chassagne ve ark., 2021)

Fabaceae familyası 19.000'den fazla tür ile çiçekli bitkilerin en büyük familyasıdır (Kenicer, 2005). *Lathyrus L.* (Fabaceae) cinsi, başta Akdeniz olmak üzere dünya çapında 200'den fazla tür içermektedir. Türkiye'de *Lathyrus* türleri 26'sı endemik olmak üzere 76 taksondan oluşmaktadır (Günes ve Meriç, 2017; Ceylan ve ark., 2021). *Lathyrus* cinsine ait bazı türlerin gıda, yem, süs bitkileri olarak ekonomik açıdan önemli olduğu bilinmektedir. Yüksek besin içeriği (amino asitler ve yağ asitleri vb.) nedeniyle gıda kaynağı olarak kullanılmaktadır (Lambein ve ark., 2019). Ayrıca *L. cicera*, *L. sativus*, *L. rotundifolius* subsp. *miniatus* gibi birçok *Lathyrus* türü Anadolu geleneksel tıbbında ödem, romatizma ve ağrı tedavisinde kullanılmaktadır (Altundag ve Ozturk, 2011).

Yaygın olarak çalı nohut olarak bilinen *Lathyrus czechottianus* Bassler, Türkiye'ye özgü, ekonomik açıdan önemli bir türdür (Ceylan ve ark., 2021). Bu çalışmada *L. czechottianus* bitkisinden elde edilen metanol ve su özütlerinin; *Salmonella/mikroozom* (Ames) test sistemi ile mutajenik ve antimutajenik potansiyelleri ve standart patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirilmiştir. Mutajenik ve antimutajenik aktivitenin araştırılması adına bu çalışma ilk olma niteliğini taşımaktadır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Bitki örneğinin toplanması

L. czechottianus bitkisine ait örnekler 2018 yılının Haziran ayında, Ankara Çubuk ilçesi Karagöl mevkiinden çiçeklenme döneminde toplandı. Bitkinin sistematik teşhisi Prof. Dr. Murad Aydın ŞANDA (Muş Alpaslan Üniversitesi) tarafından yapıldı. Bitki örneğine ait numuneler RC-13-25 örnek numarası ile Selçuk Üniversitesi Biyoloji Bölümünde saklandı.

2.2. Bitki örneklerinden özütlerin elde edilmesi

Gölge bir yerde saklanan bitki numuneleri, iyice kurutulduktan sonra değirmen yardımı ile öğütülerek toz hale getirildi. 10 g örnek tartılarak 200 ml metanol içerisinde, oda ısısında 24 saat boyunca maserasyon yöntemi ile ekstrakte edildi. Daha sonra Whatman No:1 kağıdı ile süzülen özütün, evaporatör yardımı ile çözücüsü uçuruldu. Kurutulan özüt kullanıncaya kadar +4 C'de muhafaza edildi.

Su özütü hazırlamak için 10 g bitki örneği 200 ml kaynamış suda 15 dk boyunca infüze edildi. Daha sonra süzme işlemi yaparak içerisinde bulunan su tamamen uçuruldu (Llorent-Martínez ve ark., 2017).

2.3. Mutajenik ve antimutajenik kapasitenin değerlendirilmesi

L. czeczottianus bitkisine ait su ve metanol özütlelerinin herhangi bir mutasyona neden olup olmayacağı, kısa zamanlı bir bakteriyel test sistemi olan Ames testi ile araştırıldı. Çalışmada *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşları kullanıldı. TA98 suşu çerçeve kayması

Tablo 1. *S. typhimurium* suşlarının genetik özellikleri.

Suşlar	Belirlediği mutasyon	Mutasyon	DNA tamiri ve LPS kusuru	R faktör	Hedef DNA	Plazmit
TA98	Çerçeve kayması	hisD3052	uvrB-, rfa	+R	AT→CG Transisyon	pKM101
TA100	Baz çifti değişimi	hisG46	uvrB-, rfa	+R	CG yanından -1	pKM101

Testlerde kullanılmak üzere özütlelerin toksik olmayan dozları Dean ve ark. (1985) önerdiği metoda göre belirlendi. Bitki özütlelerinin öncelikli olarak mutajenik potansiyelleri değerlendirildi. Bunun için Maron ve Ames (1983) tarafından önerilen plak inkorporasyon testi küçük modifikasyonlar yapılarak uygulandı (Nibras Qader Qader ve ark., 2022).

Özetle; suşların taze gecelik kültürleri 63 µl ampisilin içeren Nutrient broth No: 2 besiyerinde hazırlandı. 150 rpm'de 37 °C'de 16 saat boyunca çalkalanarak hazırlanan kültürlerden yeni besiyerlerine 0.5 ml eklendi ve aynı ortam şartlarında 7-7.5 saat inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda kültürün 1 ml'sinde yaklaşık 1-2x10⁹ canlı bakteri olduğu hesaplandı. Mutajenite deneyinde Histidin ve diğer gelişim faktörlerini içermeyen Minimal Glukoz Agar (MGA) besiyerleri kullanıldı. 2.5 ml olarak hazırlanan ve 45 °C'lik sıcak su banyosunda bekletilen ve iz miktarda Histidin ihtiva eden üst agar tüplerine 0.1 ml bakteri kültürü, 0.1 ml bitki özütü ve metabolik aktivasyon enzim sistemi (S9) içermeyen deneyler için 0.5 ml Sodyum-Fosfat tamponu ilave edildi. S9'lu deneyler için ise Sodyum-Fosfat tamponu yerine % 4 S9 enzimi içeren metabolik aktivasyon enzimleri kullanıldı (Maron ve Ames, 1983). Bu karışım vortekslenerek hızlı bir şekilde karıştırıldı ve MGA plakları üzerine dökülerek yüzeye homojen yayılması sağlandı. Katılaştıran plaklar 37 °C'de 48-72 saat süreyle inkübe edildi. Çalışmaya paralel olarak; bakteri kontrol plakları, metanol özütünün çözünmesini sağlayan Dimetil sülfoksit içeren negatif kontrol plakları ve mutant bakteriler üzerinde mutajenik olduğu bilinen pozitif mutajenleri içeren pozitif kontrol plakları hazırlandı. Her bitki özütüne ait dozlar üçer tekrarlı olarak test edildi. İnkübasyon süresi sonunda plaklarda gelişen geri dönen yani revertant koloniler sayıldı. Salmonella/mikrozom test sisteminde denenen bir maddenin mutajenik olup olmadığını belirlemek için bakteri kontrol plaklarında sayılan revertant koloni sayıları esas alınır. Buna göre test edilen maddelerin plaklarında tespit edilen koloni sayıları, bakteri kontrol plağındaki sayının iki katına eşit ya da iki katından fazla ise mutajenik olarak nitelendirilir (Zengin ve ark., 2014).

Tablo 2. Çalışmada kullanılan standart patojen mikroorganizma suşları.

Mikroorganizma	Referans No	Gram boyanma özelliği	Morfoloji
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Gram negatif	Kokobasil
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	Gram negatif	Basil
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Gram negatif	Basil
<i>Salmonella enteritidis</i>	ATCC 13076	Gram negatif	Basil
Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43300(MRSA)	Gram pozitif	Stafilokok
<i>Sarcina lutea</i>	ATCC 9341	Gram pozitif	Sarsin
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923 (MSSA)	Gram pozitif	Stafilokok
<i>Candida albicans</i>	NRRL Y-417		Maya

Lathyrus czeczottianus özütleri 50 mg/ml olacak şekilde stok solüsyonları hazırlandı. Metanol özütleleri DMSO içinde çözünürken su özütleleri ise saf su içerisinde çözülerek hazırlandı. Çalışma öncesi Mueller-Hinton besiyeri steril bir

mutasyonlarını, TA100 suşu ise baz çifti değişim mutasyonlarını tespit etmek amacı ile tercih edildi. Bu mutant bakteri suşları Selçuk Üniversitesi Sağlık Hizmetleri MYO, Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarından temin edildi. Suşların genetik kontrolleri ve bakımları literatürde belirtildiği şekilde gerçekleştirildi (Maron ve Ames, 1983). İki Salmonella suşunun genetik karakterleri Tablo 1'de verildi.

Antimutajenite deneyinde ise *L. czeczottianus* özütlelerinin; bilinen mutajenlerin neden olduğu koloni artışındaki mutasyonları geriye çekebilme yetenekleri değerlendirildi (Uysal ve ark., 2019). Bu deney serisi de yine hem S9 enzimleri içeren hem de içermeyen ortamlarda uygulandı. Bunun için üst agar içeren tüplere 0.5 ml tampon (S9 lu deney için S9 karışımı), 0.1 ml bakteri kültürü, 0.1 ml pozitif mutajen madde ve 0.1 ml farklı dozlarda bitki özütü ilave edildi. Karışım yukarıda belirtildiği şekilde hızlı bir şekilde vortekslendi ve MGA plakları yüzeyine dökülerek yayılmaları sağlandı. Üst agarın katılmasından sonra plakalar, 37°C'de 48 - 72 saat süreyle inkübe edildi ve plak başına geri dönen kolonilerin sayısı sayıldı. Her deney için dozlar üçlü tekrarlar halinde çalışıldı. Bitki ekstraktı olmadan sadece mutajen madde içeren plaklar (pozitif kontrol plağı) üzerinde büyütülen geri dönen kolonilerin sayısı, %0 inhibisyonla yani %100 mutajen olarak tanımlandı. Antimutajenik potansiyel (İnhibisyon), şu denklemle belirlendi: $[(A-B)/(A-C)] \times 100$. Burada A = Bakteri+mutajen plağındaki revertant koloni sayısı, B = Bakteri+mutajen+özüt plağındaki revertant koloni sayısı; C=Kendiliğinden geri dönen revertant koloni sayısını (sadece bakteri plağı) temsil etmektedir. Sonuçlar, inhibisyon %25'ten düşük olduğunda antimutajenik etki olmadığı, %25 ile %40 arasında bir değer için orta derecede etki ve %40'ın üzerindeki değerler için güçlü antimutajenite olarak yorumlandı (Uysal ve ark., 2016a).

2.4. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

Lathyrus czeczottianus özütlelerinin antimikrobiyal kapasitelerinin değerlendirilmesi için sıvı mikro dilüsyon yöntemi kullanıldı (Tosun ve ark., 2024).

Bu metot için kullanılan mikroorganizmalar Tablo 2'de verildi. Ayrıca çeşitli klinik örneklerden izole edilen 14 adet Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* izolatu da çalışmaya dahil edildi. Bu standart mikroorganizmalar ve izolatlar S.Ü. Sağlık Hizmetleri MYO Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarından temin edildi.

şekilde hazırlandı. Hazırlanan bu medyum 100 µl olacak şekilde 96 kuyusu bulunan mikro titre plakalarının her bir kuyusuna konuldu. Hazırlanan *L. czeczottianus* özütleleri 100 µl olacak şekilde plakların yukarıdan aşağıya ilk kuyularına

ilave edildi. İlk kuyularda toplam hacim 200 µl olurken çok kanallı pipet yardımı ile iyice karışmaları sağlandı. Daha sonra bu karışımdan 100 µl çekilerek ikinci sırada bulunan kuyulara aktarıldı. Bu durum son kuyucuğa kadar tekrar edildi ve bitki özütlerinin sıralı kuyularda 12.5-0.0122 mg/ml dozlar arasında seyreltilmesi sağlandı. Gecelik taze bakteri kültürleri streil fizyolojik su içerisinde yaklaşık 0.5 Mc Farland bulanıklık derecesine (1×10^8 koloni oluşturan birim (kob)/ml) ayarlandı. Daha sonra yüzde bir oranda daha sulandırılarak bakteri konsantrasyonu 1×10^6 kob/ml'ye seyreltilti. Konsantrasyonu ayarlanan bu inokulum, plakaların yatay serilerinde her kuyucuğa 100 µl olacak şekilde dağıtıldı. İşlemler tamamlandıktan sonra her bir mikro titre plakası inkübatöre kaldırıldı ve 37 °C'de 18-24 saat süreyle inkübe edildi (Tosun ve ark., 2024).

Özütlerin mikroorganizmalar üzerindeki öldürücü olan minimum dozunu belirlemek amacı ile (minimum inhibisyon

konsantrasyonu/MİK) üremeyi takiben, önceden hazırlanmış % 0.5'lik 2,3,5 Trifenil tetrazolyum klorit çözeltisinden 20 µl her kuyucuğa dağıtıldı ve plakalar 30 dakika daha inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda üremenin inhibe edildiği (renksiz alanlar) en düşük kuyu değeri MİK değeri olarak belirlendi.

3. Sonuçlar ve Tartışma

Çalışma öncesi yapılan denemelerde her iki özüt için de 10000, 5000 ve 1000 µg/plak dozlarının toksik olmadığı ve deneylerde kullanılabilmesi tespit edildi. Mevcut çalışmada *Lathyrus czeczottianus* bitkisinin metanol ve su özütlerinin mutajenik ve antimutajenik yetenekleri değerlendirildi. Çalışma hem S9'lu hem de S9'suz ortam şartlarında gerçekleştirildi. Revertant koloni sayılarına ait ortalama değerler ve standart sapmalar Tablo 3'de verildi.

Tablo 3. *Lathyrus czeczottianus* özütlerinin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşları üzerinde metabolik aktivasyon varlığında ve yokluğunda mutajenik etkileri.

	Konsantrasyon(µg/plak)	His+ Revertant sayısı/plak			
		TA 98		TA 100	
		S9 (-)	S9 (+)	S9 (-)	S9 (+)
*Negatif kontrol	100 µl/plak	35±2	32±4	103±6	132±13
®Pozitif kontrol		2626±29	2866±57	1952±169	2915±56
	0	36±5	37±7	116±18	144±13
	10000	32±2	38±3	134±5	158±10
<i>Lathyrus</i> metanol özütü	5000	23±1	43±4	175±7	149±9
	1000	27±1	34±1	81±6	187±7
*Negatif kontrol	100 µl/plak	35±2	32±4	103±6	132±13
®Pozitif kontrol		2626±29	2866±57	1952±169	2915±56
	0	36±5	37±7	116±18	144±13
	10000	26±2	64±2	184±11	193±14
<i>Lathyrus</i> su özütü	5000	27±0	46±4	123±7	153±6
	1000	24±0	57±5	136±10	157±4

* Negatif kontrol: S9 varlığında ve yokluğunda *S. typhimurium* TA98 ve TA100 için negatif kontrol olarak DMSO (100 µl/plak) kullanıldı

® Pozitif kontroller:

2-Aminofloren (7.5 µg/plak), S9 karışımının varlığında pozitif dolaylı mutajen olarak kullanıldı; *S. typhimurium* TA98 suşu için S9 karışımı yokluğunda pozitif doğrudan mutajen olarak 4-nitro-O-fenilendiamin (5 µg/plak) kullanıldı.

2-Aminoantrasen (5 µg/plak), S9 karışımının varlığında pozitif dolaylı mutajen olarak kullanıldı; *S. typhimurium* TA100 için S9 karışımının yokluğunda pozitif doğrudan mutajen olarak sodyum azid (5 µg/plak) kullanıldı.

Ames testinden elde edilen sonuçlara göre *L. czeczottianus* metanol ve su özütleri test edilen her üç (10000, 5000, 1000 µg/plak) dozda kontrol plağında belirlenen sayının iki katı kadar ya da daha fazla bir artışa sebep olmamıştır (Tablo 3). Diğer bir tabirle su ve metanol özütleri en yüksek dozlarda dahi herhangi bir çerçeve kayması ve baz çifti değişimi mutasyonuna neden olmamıştır. Bu nedenlerle revertant sayılarında aşırı bir artışın olmayışı, *L. czeczottianus* özütlerinin Salmonella/mikrozom test sisteminde mutajenik özelliklerinin olmadığını göstermiştir.

Mevcut çalışmada *L. czeczottianus* özütlerinin mutajenik karakter sergilememesinden dolayı 10000 µg/plak, 5000 µg/plak ve 1000 µg/plak dozlarında, suşlar üzerinde mutasyona neden olan mutajenik maddelere karşı antimutajenik potansiyelleri araştırıldı. Sonuçlar % inhibisyon ve koloni sayıları şeklinde Tablo 4'de verildi. TA98 için metanol özütü, 10000 ve 5000 µg/plaka dozlarında 4-NPDA'ya sırasıyla %37, %30 inhibisyon oranları ile orta derecede antimutajenik etkili görüldü. Su özütü ise sadece en yüksek konsantrasyonda (10000 µg) orta derecede antimutajenite (%33) gösterdi (Tablo 4). S9

karışımının eklenmesinden sonra metanol özütü, 2-aminoflorenin çerçeve kayması mutasyonuna karşı tüm test dozlarında çok güçlü antimutajenite (%73, %63, %57) ortaya koydu. Benzer şekilde su özütü, TA98 için S9 karışımı ile 10000 µg/plaka dozunda en yüksek antimutajenik potansiyeli (%85) sergiledi ve bunu %41 inhibisyonla 5000 µg/plaka dozu takip etti. Sonuçlardan da görüleceği üzere metabolik aktivasyon enzimlerinin ilavesi özütü çok güçlü bir antimutajenik ajan haline getirdiği düşünüldü.

Metanol özütü TA100 suşu için S9 enzimlerinin yokluğunda sodyum azidin baz çifti değişim mutasyon etkisine 10000 ve 5000 µg/plak dozlarında %33 ve %28 inhibisyon oranları ile orta derecede antimutajenik aktivite gösterdi. Su özütü ise sadece en yüksek dozda %33 inhibisyon ile sodyum azidin etkisini iyileştirdi. Ortam şartlarına metabolik aktivasyon enzim karışımı eklendikten sonra metanol özütü, 10000 (%78) ve 5000 µg/plak (%54) konsantrasyonlarında 2-aminoantrasene karşı güçlü antimutajenite gösterdi ve 2-aminoantrasenin mutajenik etkisini hafifletti (Tablo 4). Su özütünde ise S9 karışımının ilavesi test edilen dozlarda herhangi gözle görülebilen bir inhibisyon artışına neden olmadı.

Tablo 4. *L. czeczottianus* özütlerinin metabolik aktivasyonlu (S9) ve metabolik aktivasyonsuz şartlarda *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarına karşı antimitojenitesi.

	Konsantrasyon(µg/plak)	His ⁺ Revertant sayısı/plak							
		TA 98				TA 100			
		S9 (-)	% inhibisyon	S9 (+)	% inhibisyon	S9 (-)	% inhibisyon	S9 (+)	% inhibisyon
*Negatif kontrol	100 µl/plak	31±4		32±4		128±9		138±11	
®Pozitif kontrol		1022±86	0	2783±136	0	2424±98	0	1715±164	0
	0	35±5		32±6		140±11		144±9	
<i>Lathyrus</i> metanol özütü	10000	658±32	37	788±815	73	1668±27	33	494±26	78
	5000	724±31	30	1092±165	63	1775±5	28	865±23	54
	1000	786±24	24	1223±116	57	2007±126	18	1542±60	11
*Negatif kontrol	100 µl/plak	31±4		32±4		128±9		138±11	
®Pozitif kontrol		1022±86	0	2783±136	0	2424±98	0	1715±164	0
	0	35±5		32±6		140±11		144±9	
<i>Lathyrus</i> su özütü	10000	701±63	33	456±28	85	1666±83	33	1275±86	28
	5000	942±62	8	1655±121	41	1997±50	19	1410±25	19
	1000	1610±15	0	1784±87	36	2105±8	14	1759±121	0

* Negatif kontrol: S9 varlığında ve yokluğunda *S. typhimurium* TA98 ve TA100 için negatif kontrol olarak DMSO (100 µl/plak) kullanıldı

® Pozitif kontroller:

2-Aminofloren (7.5 µg/plak), S9 karışımının varlığında pozitif dolaylı mutajen olarak kullanıldı; *S. typhimurium* TA98 suşu için S9 karışımı yokluğunda pozitif doğrudan mutajen olarak 4-nitro-O-fenilendiamin (5 µg/plak) kullanıldı.

2-Aminoantrasen (5 µg/plak), S9 karışımının varlığında pozitif dolaylı mutajen olarak kullanıldı; *S. typhimurium* TA100 için S9 karışımının yokluğunda pozitif doğrudan mutajen olarak sodyum azid (5 µg/plak) kullanıldı.

Lathyrus türleri ile yapılan antimitojenite çalışmaları oldukça sınırlıdır. Yapılan bir çalışmada Spanou ve ark. (2007) *L. laxiflorus subsp. laxiflorus* bitkisine ait su ve metanol özütlerinin DNA hasarına karşı iyi oranda iyileştirici etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır. *L. czeczottianus* metanol ve su özütü ile yapılan önceki çalışmalarda detaylı olarak HPLC analizleri yapılmıştır. Metanol özütünün fenolik asitler bünyesinde dihidroksi benzoik asit, kafeik asit, epikateşin ve kafeolkunik asit içerdiği belirlenmiştir. Flavonoidlerden ise kampferol, izorhamnetin, apigenin, luteolin ve kuersetin içerdiği tespit edilmiştir (Llorent-Martínez ve ark., 2017). Daha önce yapılan çeşitli araştırmalarda dihidroksi benzoik asit, kafeik asit ve epikateşin bileşiklerinin çeşitli mutajenlere karşı antimitojenite sergiledikleri rapor edilmiştir (Yamada ve Tomita, 1996; Birosova ve ark., 2005; Manuja ve ark., 2013; Uysal ve ark., 2016b). Flavonoid grubu apigenin, luteolin, kuersetin gibi bileşiklerle ilgili de bilinen mutajenlere karşı antiutajenik potansiyel sergiledikleri belirlenmiştir (Choi ve ark., 1994; Geetha ve ark., 2005; Gulluce ve ark., 2013). Bu nedenlerden dolayı; *L. czeczottianus* özütlerinin ortaya koyduğu antimitojenik potansiyelin, içerdiği fenolik ve flavonoidlerden kaynaklandığı düşünülmüştür. Metabolik aktivasyon enzimlerinin özütlerin antimitojenitesini arttırdığı gözlemlenmiştir. *Lathyrus czeczottianus* özütlerinin iyi bilinen mutajenik maddelere karşı antimitojenik ajanların doğal kaynağı olabileceği öne sürülebilir. Yapılan literatür çalışmaları sonucunda *L. czeczottianus* ile ilgili yapılmış herhangi mutajenite/antimitojenite çalışması bulunmadığı görülmüştür. Bu durumda çalışmamız bu bitki ile yapılmış ilk özgün antimitojenite çalışması olma niteliğini taşımaktadır.

Özütlerin patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkinlikleri, sıvı mikro dilüsyon test sistemi ile araştırıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo 5'de verilmiştir.

Çalışmada sekiz standart mikroorganizma ve 14 klinik MRSA izolatu kullanıldı. Elde edilen sonuçlara göre *L. czeczottianus* metanol özütü 3 numaralı MRSA suşu hariç diğer mikroorganizmaların tamamında 12.5 mg/ml dozda öldürücü etki gösterdi. 3 numaralı MRSA suşunda ise metanol özütü sadece 6.25 mg/ml dozda etkili olabildi. Su özütü değerlendirildiğinde; *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. enteritidis*

gibi Gram negatif bakterilere karşı 12.5 mg/ml dozda etkili olurken, *S. lutea* (Gram pozitif bakteri) ve *C. albicans* mayasına karşı yine aynı dozda (12.5 mg/ml) etki gösterdi. Diğer tüm standart suşlar ve klinik MRSA bakterileri bu özüte karşı dirençli bulundu. Metanol özütü ile su özütü arasındaki aktivite farkının metanol özütü içerisinde yer alan fenolik ve flavonoid bileşiklerden kaynaklandığı düşünüldü. Kontrol antibiyotikleri olan Gentamisin ve Okzasilin ile kıyaslandıklarında elde edilen bu minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerlerinin zayıf etkili bir antimikrobiyal aktivite olduğu öne sürüldü.

Türkiye'de yetişen *L. armenus*, *L. aureus*, *L. cilicicus*, *L. laxiflorus subsp. Laxiflorus* ve *L. pratensis* türlerinin biyolojik aktivitelerinin değerlendirildiği bir çalışmada, farklı çözücüler ile hazırlanan özütlerden özellikle etil asetat özütlerinin test suşları üzerinde 1-0.5 mg/ml dozlarda eki gösterdiği ortaya koyulmuştur (Heydari ve ark., 2019). Bir başka çalışmada ise *L. tuberosus* bitkisinden elde edilen etanol özütünün, özellikle Gram pozitif bakteriler olan *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pyogenes* türleri üzerinde sırasıyla 0.354 mg/ml ve 0.488 mg/ml dozlarda etkili olduğu saptanmıştır (Jakabfi-Csepregi ve ark., 2024). Sharifi-Rad ve ark. (2016) yaptıkları bir çalışmada, *L. aphaca* bitkisinin metanol özütünün 0.3-0,010 mg/ml dozlarında en fazla inhibisyon zonunu 0.3 mg/ml dozda MRSA izolatlarına karşı elde edildiğini bildirmişlerdir. *L. odoratus* türünden elde edilen antosiyaninler ve etanol özütü çeşitli mikroorganizma ve mayalar üzerinde denemiştir. Bitkinin etanol özütü anti-bakteriyel ve maya olarak en düşük etkiyi gösterirken, antifungal olarak en yüksek etkiyi göstermiştir (Mohamed, 2009). *L. aphaca* ve *L. ratans* türlerinin tohumlarında elde edilen bütanol özütlerinin antimikrobiyal etkinliklerinin test edildiği başka bir çalışmada; her iki türe ait özütler önemli düzeyde *S. aureus* bakterisine karşı en yüksek inhibisyon zonunu oluşturmuştur. Aynı zamanda bu türler *S. aureus*'a karşı önemli düzeyde (76 µg/ml ve 112 µg/ml) MİK değeri ortaya koymuştur (Khan ve ark., 2009). Araştırmacıların diğer *Lathyrus* türleri ile yaptıkları çalışmalarla kıyaslandığında mevcut MİK değerlerinin daha az etkili olduğu düşünülmüş; çalışmamızda test edilen özütlerin ham özütler olduğu göz önüne alındığında araştırmacıların sonuçları ile uyumlu olduğu düşünülmüştür.

Tablo 5. *L. czeczottianus* özütlerinin hastalık yapan mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkinliği.

Mikroorganizmalar	Gentamisin MİK değerleri		Okzasilin MİK değerleri	
	Metanol	Su	(µg/ml)	(µg/ml)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	12.5	12.5	2.44	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	12.5	12.5	9.76	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (MSSA)	12.5	-	2.44	0.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	12.5	-	2.44	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	12.5	-	78.12	64
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	12.5	12.5	4.88	
<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	12.5	12.5	4.88	
<i>Candida albicans</i> NRRL Y-417	12.5	12.5	312.5	
MRSA suşu 1 (ES 16)	12.5	-	156.25	16
MRSA suşu 2 (ES 25)	12.5	-	312.5	≥128
MRSA suşu 3 (ES 29)	6.25	-	312.5	32
MRSA suşu 4 (ES 67)	12.5	-	156.25	32
MRSA suşu 5 (ES 68)	12.5	-	156.25	≥128
MRSA suşu 6 (ES 69)	12.5	-	312.5	≥128
MRSA suşu 7 (ES 75)	12.5	-	156.25	≥128
MRSA suşu 8 (ES 93)	12.5	-	78.12	≥128
MRSA suşu 9 (ES 100)	12.5	-	78.12	≥128
MRSA suşu 10 (ES 107)	12.5	-	156.25	8
MRSA suşu 11 (ES 110)	12.5	-	156.25	≥128
MRSA suşu 12 (ES 123)	12.5	-	78.12	16
MRSA suşu 13 (ES 124)	12.5	-	78.12	≥128
MRSA suşu 14 (ES 128)	12.5	-	78.12	≥128

4. Sonuç

Bu çalışmada *L. czeczottianus* bitkisinin toprak üstü bölümlerine ait metanol ve su özütleri elde edilmiş ve bu özütler mutajenik, antimutajenik ve antimikrobiyal açıdan değerlendirilmiştir. Sonuçlar özütlerin herhangi mutajenik karaktere sahip olmadığını; özellikle de bilinen mutajenlere karşı TA98 suşunda S9 enzimleri varlığında su özütünün %85, metanol özütünün ise %73 inhibisyon oranı ile güçlü bir antimutajenik etki gösterdiğini ortaya koymuştur. TA100 suşu için ise metabolik aktivasyon enzimleri ilavesi ile metanol özütünün 2-AA'ya karşı %78 inhibisyon oranı ile mücadele ettiği belirlenmiştir. *L. czeczottianus* özütlerinin iyi bilinen mutajenik maddelere karşı kemopreventif ajanların doğal kaynağı olabileceği öne sürülebilir. Antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre metanol özütü her test suşuna zayıf da olsa etki göstermiştir. Yapılan bu çalışma ile *L. czeczottianus* türüne ait mutajenite/antimutajenite ve antimikrobiyal aktiviteler ilk defa ortaya konmuştur ve özgün olma değeri taşımaktadır.

Teşekkür

Bitkinin toplanmasında ve özütlerin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Gökhan Zengin (Selçuk Üniversitesi) ve Dr. Ramazan Ceylan (Sabancı Üniversitesi)'a teşekkürlerimizi sunarız.

Yazar Katkı Beyannamesi

Mustafa Kul: Metodoloji; Proje Yönetimi; Yazma - orijinal taslak; Yazma - gözden geçirme ve düzenleme (% 40).
Ahmet UYSAL: Metodoloji; Finansal destek; Yazma - orijinal taslak; Yazma - gözden geçirme ve düzenleme (% 60).

Kaynaklar

Altundag, E. ve Ozturk, M., (2011), Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey, *2nd International Geography Symposium-Mediterranean Environment 2010*, 19, 756-777.

- Birosova, L., Mikulasova, M. ve Vaverkova, S., (2005), Antimutagenic effect of phenolic acids, *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 149 (2), 489-491.
- Ceylan, R., Zengin, G., Guler, G. O. ve Aktumsek, A., (2021), Bioactive constituents of and ethyl acetate and water extracts and their biological activities: An endemic plant to Turkey, *South African Journal of Botany*, 143, 306-311.
- Chassagne, F., Samarakoon, T., Porras, G., Lyles, J. T., Dettweiler, M., Marquez, L., Salam, A. M., Shabih, S., Farrokhi, D. R. ve Quave, C. L., (2021), A Systematic Review of Plants With Antibacterial Activities: A Taxonomic and Phylogenetic Perspective, *Frontiers in Pharmacology*, 11.
- Choi, J. S., Park, K. Y., Moon, S. H., Rhee, S. H. ve Young, H. S., (1994), Antimutagenic effect of plant flavonoids in the Salmonella assay system, *Archives of pharmacal research*, 17, 71-75.
- Dean, B., Brooks, T., Hodson-Walker, G. ve Hutson, D., (1985), Genetic toxicology testing of 41 industrial chemicals, *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 153 (1-2), 57-77.
- Faydaoğlu, E. ve Sürücüoğlu, M. S., (2011), Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi, *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 11 (1), 52-67.
- Geetha, T., Malhotra, V., Chopra, K. ve Kaur, I. P., (2005), Antimutagenic and antioxidant/prooxidant activity of quercetin, *Indian Journal of Experimental Biology*, 43 (1), 61-67.
- Gulluce, M., Agar, G., Baris, O., Karadayi, M., Orhan, F. ve Sahin, F., (2010), Mutagenic and antimutagenic effects of hexane extract of some Astragalus species grown in the eastern Anatolia region of Turkey, *Phytotherapy Research*, 24 (7), 1014-1018.
- Gulluce, M., Orhan, F., Adiguzel, A., Bal, T., Guvenalp, Z. ve Dermirezer, L. O., (2013), Determination of antimutagenic properties of apigenin-7-O-rutinoside, a flavonoid isolated from *Mentha longifolia* (L.) Huds. ssp. *longifolia* with yeast DEL assay, *Toxicology and Industrial Health*, 29 (6), 534-540.
- Günes, F. ve Meriç, Ç., (2017), Morphological, anatomical and karyological investigations of the Turkish endemic species Bornm. (Fabaceae), *Acta Botanica Croatica*, 76 (2), 132-137.

- Heydari, H., Iscan, G. S., Eryilmaz, M., Acikara, O. B., Sarialtin, S. Y., Tekin, M. ve Coban, T., (2019), Antimicrobial and Anti-Inflammatory Activity of Some Lathyrus L. (Fabaceae Species Growing in Turkey), *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16 (2), 240-245.
- Jakabfi-Csepregi, R., Alberti, A., Felegyi-Tóth, C. A., Köszegi, T., Czige, S. ve Papp, N., (2024), A Comprehensive Study on L.: Insights into Phytochemical Composition, Antimicrobial Activity, Antioxidant Capacity, Cytotoxic, and Cell Migration Effects, *Plants-Basel*, 13 (2).
- Kenicer, G., (2005), Legumes of the World. Edited by G. Lewis, B. Schrire, B. MacKinder & M. Lock. Royal Botanic Gardens, Kew. 2005. , *Edinburgh journal of botany*, 62 (3), 195-196.
- Khan, N. A., Quereshi, S., Pandey, A. ve Srivastava, A., (2009), Antibacterial Activity of Seed Extracts of Commercial and Wild Species, *Turkish Journal of Biology*, 33 (2), 165-169.
- Lambein, F., Travella, S., Kuo, Y. H., Van Montagu, M. ve Heijde, M., (2019), Grass pea (Lathyrus sativus L.): orphan crop, nutraceutical or just plain food?, *Planta*, 250 (3), 821-838.
- Llorent-Martínez, E. J., Zengin, G., Córdova, M. L. F. D., Bender, O., Atalay, A., Ceylan, R., Mollica, A., Mocan, A., Uysal, S., Guler, G. O. ve Aktumsek, A., (2017), Traditionally Used Species: Phytochemical Composition, Antioxidant Activity, Enzyme Inhibitory Properties, Cytotoxic Effects, and Studies of *L. czeczottianus* and *L. nissolia*, *Frontiers in Pharmacology*, 8, 1-20.
- Manuja, R., Sachdeva, S., Jain, A. ve Chaudhary, J., (2013), A comprehensive review on biological activities of p-hydroxy benzoic acid and its derivatives, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 22 (2), 109-115.
- Maron, D. M. ve Ames, B. N., (1983), Revised methods for the Salmonella mutagenicity test, *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 113 (3-4), 173-215.
- Mohamed, S. M., (2009), Anthocyanins and fatty acids from the flowers of *L.* and their antimicrobial activity, *Planta Medica*, 75 (9), 1073-1074.
- Mortelmans, K. ve Zeiger, E., (2000), The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 455 (1), 29-60.
- Nibras Qader Qader, I., Obali, I., Ismet Ucan, H., Uysal, A., Yilmaz Obali, A. ve Kul, M., (2022), Ortho-hydroxy bioactive schiff base compounds: Design, comprehensive characterization, photophysical properties and elucidation of antimicrobial and mutagenic potentials, *Bioorganic Chemistry*, 119, 105507.
- Roleira, F. M. F., Tavares-da-Silva, E. J., Varela, C. L., Costa, S. C., Silva, T., Garrido, J. ve Borges, F., (2015), Plant derived and dietary phenolic antioxidants: Anticancer properties, *Food Chemistry*, 183, 235-258.
- Sharifi-Rad, M., Iriti, M., Sharifi-Rad, M., Gibbons, S. ve Sharifi-Rad, J., (2016), Anti-methicillin-resistant (MRSA) activity of Rubiaceae, Fabaceae and Poaceae plants: A search for new sources of useful alternative antibacterials against MRSA infections, *Cellular and Molecular Biology*, 62 (9), 39-45.
- Spanou, C., Stagos, D., Tousias, L., Angelis, A., Aligiannis, N., Skaltsounis, A. L. ve Kouretas, D., (2007), Assessment of antioxidant activity of extracts from unique Greek varieties of plants using assays, *Anticancer Research*, 27 (5a), 3403-3410.
- Tosun, M., Uysal, A., Kursunlu, A. N. ve Guler, E., (2024), A new family of macrocyclic antibiotics based-on Pillar[5]arene concluding multi quinoline moieties, *Tetrahedron*, 151, 1-6.
- Uysal, A., Gunes, E., Sarikurkcu, C., Celik, H., Durak, Y. ve Uren, M. C., (2016a), New Prospective Materials for Chemoprevention: Three Phlomis, *British Journal of Pharmaceutical Research*, 10(3), 1-13.
- Uysal, A., Zengin, G., Mollica, A., Gunes, E., Locatelli, M., Yilmaz, T. ve Aktumsek, A., (2016b), Chemical and biological insights on *Cotoneaster integerrimus*: A new (-)-epicatechin source for food and medicinal applications, *Phytomedicine*, 23 (10), 979-988.
- Uysal, A., Ozer, O. Y., Zengin, G., Stefanucci, A., Mollica, A., Picot-Allain, C. M. N. ve Mahomoodally, M. F., (2019), Multifunctional approaches to provide potential pharmacophores for the pharmacy shelf: *Heracleum sphondylium* L. subsp. *ternatum* (Velen.) Brummitt, *Computational Biology and Chemistry*, 78, 64-73.
- Veiga, M., Costa, E. M., Silva, S. ve Pintado, M., (2020), Impact of plant extracts upon human health: A review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60 (5), 873-886.
- WHO, (2013), World Health Organization traditional medicine strategy: 2014-2023, World Health Organization, p.
- Yamada, J. ve Tomita, Y., (1996), Antimutagenic activity of caffeic acid and related compounds, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 60 (2), 328-329.
- Zengin, G., Uysal, A., Gunes, E. ve Aktumsek, A., (2014), Survey of Phytochemical Composition and Biological Effects of Three Extracts from a Wild Plant (*Cotoneaster nummularia* Fisch et Mey.): A Potential Source for Functional Food Ingredients and Drug Formulations, *Plos One*, 9 (11), e113527.