

## CENTAUREA CYANUS L.'NİN SEKONDER METABOLİTLERİ

### SECONDARY METABOLITES OF *CENTAUREA CYANUS* L.

Gökçen TAN<sup>1</sup>, Şüra BAYKAN EREL<sup>2</sup>, Serdar DEMİR<sup>2</sup>, İsmail AKGÜN<sup>3</sup>, Erdal BEDİR<sup>3</sup>  
Canan KARAALP<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Bodrum Devlet Hastanesi, Muğla

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, 35100 Bornova-İzmir

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, 35100 Bornova-İzmir

#### ÖZET

*Bu çalışmada, Manisa Spil dağından toplanmış olan Centaurea cyanus'un kurutularak toz edilmiş toprak üstü kısımlarından, n-hekzan, kloroform ve metanol ekstraktları hazırlanmıştır. Çeşitli kromatografik yöntemler kullanılarak n-butanol ekstresi üzerinde fraksiyonlama ve izolasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. İzole edilen saf maddelerin yapı tayinleri spektroskopik yöntemler (<sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bazı fraksiyonlarda ticari saf standart maddeler kullanılarak İTK ile analiz yapılmıştır. C. cyanus'tan elde edilen n-BuOH ve MeOH ekstraktlarının içerikleri UPSK ile flavonoid bileşikleri ve klorojenik asit içeriği açısından incelenmiştir. Sonuç olarak, C. cyanus'tan izoramnetin-7-O-β-D-glukopiranozid ve apigenin bileşikleri izole edilmiştir. Siringin, klorojenik asit ve apigenin varlığı ise İTK ile tespit edilmiştir. Ayrıca, ekstraktlarda klorojenik asit, homoorientin, luteolin-3-O-glikozid ve luteolin-4-O-glikozid bulunduğu UPSK metodu ile belirlenmiştir. Bitkide siringin, homoorientin, luteolin-3-O-glikozid ve luteolin-4-O-glikozid varlığı bu çalışma ile ilk kez ortaya konmaktadır.*

**Anahtar kelimeler:** *Centaurea cyanus*, izoramnetin-7-O-β-D-glukopiranozid, apigenin, İTK, UPSK, NMR.

#### ABSTRACT

*In this study, n-hexane, CHCl<sub>3</sub> and MeOH extracts from dried and powdered aerial parts of C. cyanus collected from Manisa, Mountain Spil were prepared. Fractionation and isolation procedures were performed on the n-BuOH extract by using several chromatographical methods. Structure elucidation of the pure compounds were performed by using spectroscopic methods (<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR). Identification studies*

were performed with TLC by using commercial pure standarts on some fractions. Contents of the n-BuOH and MeOH extracts prepared from *C. cyanus* were determined by comparing flavonoids and chlorogenic acid standarts on UPLC instrument. As a result, isorhamnetin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside and apiin were isolated from *C. cyanus*. Syringin, chlorogenic acid and apigenin were identified by using a TLC method. Furthermore, chlorogenic acid, homoorientin, luteolin-3-O-glycoside and luteolin-4-O-glycoside were determined in the extracts by using an UPLC method. Syringin, homoorientin, luteolin-3-O-glycoside and luteolin-4-O-glycoside were reported for the first time in *C. cyanus* by our work.

**Key words:** *Centaurea cyanus*, isorhamnetin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, apiin,, TLC, UPLC, NMR.

## GİRİŞ

Asteraceae familyasının Cardueae tribusunda yer alan *Centaurea* L. cinsi dünyada yaklaşık 500 tür ile temsil edilmektedir. Asya, Avrupa, Kuzey Afrika ve Amerika'da yayılış gösteren bu türlerin büyük bir çoğunluğu Batı Asya ve Akdeniz Bölgesi'nde yoğunlaşmıştır (1). *Centaurea* L. Türkiye florasında %61.1'i endemik olmak üzere 192 taksonla temsil edilmekte ve özellikle Batı, Güneybatı ve Orta Anadolu'da doğal olarak yetişmektedir. (2, 3, 4). Tür sayısının ve endemizm oranının yüksek olması, Anadolu'nun *Centaurea* cinsi için gen merkezi olabileceğini düşündürmektedir.

*Centaurea* türleri, ülkemizde halk arasında peygamber çiçeği, zerdali diken, çoban kaldıran, timur diken gibi isimlerle bilinmekte ve çok uzun yıllardır midevi, göğüs yumuşatıcı, ateş düşürücü, ishal kesici, adet getirici ve iştah açıcı olarak kullanılmaktadır (5). Bazı türlerin sıtmada, hemoroit, abse ve yara tedavisinde kullanıldığı da kayıtlıdır (6, 7). Dünyada da çeşitli *Centaurea* türleri geleneksel halk tıbbında çok değişik amaçlarla kullanım bulmaktadır (8). Yapılan çeşitli araştırmalarla, *Centaurea* türlerinin antimikrobiyal (9, 10), antioksidan (11), antienflamatuvar (9, 12), antiülserojenik (13), sitotoksik (14) ve antiprotozoal (9, 15) aktivite gösterdiği saptanmıştır. *Centaurea* türleri ile yapılan fitokimyasal çalışmalarda elde edilen ana bileşik grupları, seskiterpenler (16, 17), flavonoidler (17), lignanlar (18, 19) ve bunların glikozitleridir. Bununla birlikte indol alkaloidleri (20), triterpenler (21), monoterpenler (22), ditiyofenler (23), steroidal glikozitler (24) ve antosiyantinler de (25) izole edilmiştir.

Bu çalışma, ülkemizin tıbbi bitkilerinden olan *C. cyanus*'un sekonder metabolitlerinin kromatografik ve spektroskopik yöntemler kullanılarak belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### *Materyal*

*Centaurea cyanus* çiçeklenme döneminde (2004-Haziran), Manisa Spil dağı, 709 m'den toplanmıştır (38°35'15.6"N 27°25'24.1"E). Bitkinin herbaryum örneği hazırlanarak, Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'na kaydedilmiştir (İZEZ 5685).

### *Ekstraksiyon ve izolasyon*

Kurutularak toz edilmiş *C. cyanus*'un toprak üstü kısımları (400 g), sırası ile *n*-hekzan, CHCl<sub>3</sub> ve MeOH (2 x 2.5 L) ile, ultrasonik banyoda ekstre edilmiştir. Solvanlar evaporatörde kuruluğa kadar uçurularak, *n*-hekzan (4.6 g), CHCl<sub>3</sub> (5.66 g) ve MeOH (12.14 g) ekstraları elde edilmiştir. MeOH ekstresi *n*-butanol ile partisyona tabi tutulmuştur. Zengin bir İTK profiline sahip olması nedeni ile, BuOH ekstresi (10 g), RP C-18 silika jel kolona (200 g,) uygulanmıştır. Vakum sıvı kromatografisi (VSK) ile fraksiyonlama işlemine, çözücü sistemi H<sub>2</sub>O:MeOH (100:0→0:100 (%10'luk artışlarla, 1'er L) şeklinde değiştirilerek devam edilmiş ve CHCl<sub>3</sub>:MeOH (sırasıyla 2:8, 4:6 ve 5:5, 200'er ml) çözücü sistemleriyle fraksiyonlama işlemi tamamlanmıştır. Ayırma işlemi sonucunda toplam 95 ana fraksiyon elde edilmiştir. Fr.35-40 'ın (498 mg) açık kolon kromatografisi (AKK) ile Sefadeks kolondan %100 MeOH ile elüsyonu sonunda 249 fraksiyon toplanmıştır. 174-185 no'lu fraksiyonlar birleştirilerek bileşik **1** (29 mg) elde edilmiştir. Aynı kolondan elde edilen Fr.125-135 (27 mg) silika kolona (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH; 95:5→70:30, %2.5 azalma ile) uygulanmış ve bileşik **2** (16 mg) elde edilmiştir.

İzolasyon çalışmaları esnasında elde edilen bazı fraksiyonlarda, flavonoit yapısındaki maddelerin ve fenolik asitlerin varlığının belirlenebilmesi amacı ile standart örneklerle İTK karşılaştırması yapılmıştır. Normal faz silika jel plak için EtOAc/HCOOH/CH<sub>3</sub>COOH/H<sub>2</sub>O (100:11:11:26) solvan sistemi, selüloz cam plak için ise BuOH/CH<sub>3</sub>COOH/H<sub>2</sub>O (4:1:5-üst faz) solvan sistemi kullanılmıştır.

Total ekstraların içerikleri, Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi (UPSK) cihazında 18 flavonoit bileşiği (akasetin, apigenin, hesperidin, homoorientin, luteolin 3'-*O*-glukozit, kemferol, izoşaftozit, izoviteksin, luteolin 4'-*O*-glukozit, luteolin, naringenin, orientin, kersetin, kersitrin, rutin, skutellarin, şaftozit ve viteksin) ve klorojenik asit standartları ile karşılaştırılarak incelenmiştir.

**Çalışma koşulları:**

İTK: 60 F<sub>254</sub> (Merck) ve Lichroprep RP-C18 (Merck) alüminyum plaklar, vanilin/sülfürik asit belirteci, selüloz cam plak (Merck), Natural Products-Polietilenglikol Belirteci (NP/PEG, Roth), 254 ve 366 nm UV dedeksiyon.

VSK: Lichroprep RP-C18 (Merck, 25-40 µm) kolon dolgu materyali.

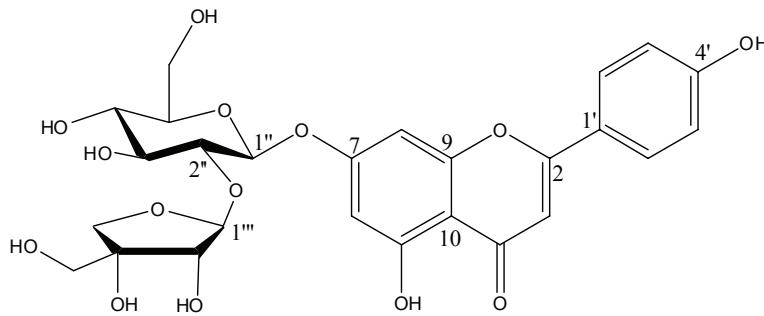
AKK: Kiesel gel 60 F<sub>254</sub> (Merck, 40-63 µm) ve Sefadex LH-20 (Ge Healthcare) kolon dolgu materyali.

NMR: Varian 400 MHz, çözücü: DMSO-*d*<sub>6</sub>, standart: Tetrametil silan (TMS).

UPSK: Thermo Scientific, Kolon: Thermo Scientific Hypersil Gold C-18, 1.9 µm 2.1 x 50 mm, solvan sistemi: A: H<sub>2</sub>O (%0.25 CF<sub>3</sub>COOH ile), B: Asetonitril (%0.25 CF<sub>3</sub>COOH ile), C: MeOH, enjeksiyon hacmi: 1 µl, dedeksiyon: 190-800 nm, gradiyent: 96:4:0→0:0:100 (5 dk'da %10 artış).

**SONUÇ VE TARTIŞMA**

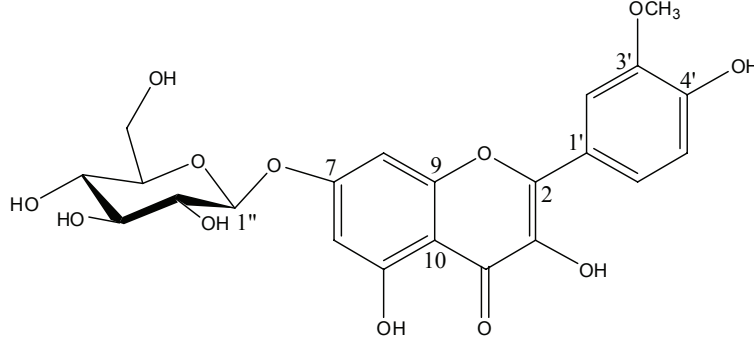
*C. cyanus*'tan izolasyon ve saflaştırma işlemleri sonucunda izole edilen bileşik **1** ve **2**'nin <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C datalarının literatür verileri ile karşılaştırılması ile flavonoit yapısında olan bu maddelerin sırasıyla izoramnetin-7-*O*-β-D-glukopiranozit ve apiin oldukları belirlenmiştir (26).

**İzoramnetin-7-*O*-β-D-glukopiranozit**

<sup>1</sup>H NMR (δ ppm) 6.46 (1H, d, H-6, J=2.4 Hz), 6.87 (1H, d, H-8, J =2.4 Hz), 7.80 (1H, d, H-2', J=2 Hz), 6.97 (1H, d, H-5', J=8.8 Hz), 7.75 (1H, dd, H-6', J=2 -8.4 Hz), 5.07 (1H, d, H-1'', J=7.2 Hz), 3.87 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), <sup>13</sup>C NMR (δ ppm) 148.02 (C-2), 136.92 (C-3), 176.78 (C-4), 161.03 (C-5), 99.47 (C-6), 163.44 (C-7), 95.34 (C-8), 156.39 (C-9), 105.38 (C-10), 122.53 (C-1'), 112.52 (C-

2'), 149.72 (C-3'), 148.12 (C-4'), 116.26 (C-5'), 122.61 (C-6'), 100.78 (C-1''), 73.85 (C-2''), 77.19 (C-3''), 70.36 (C-4''), 77.99 (C-5''), 61.36 (C-6''), 56.51 (OCH<sub>3</sub>).

### Apiin



<sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm) 6.85 (1H, s, H-3), 6.40 (1H, s, H-6), 6.79 (1H, s, H-8), 7.93 (1H, d, H-2' J=8.8 Hz), 6.92 (1H, d, H-3', J=8.8 Hz), 6.92 (1H, d, H-5', J=8.8 Hz), 7.93 (1H, d, H-6', J=8.8 Hz), 5.14 (1H, d, H-1'', J=7.6 Hz), 5.33 (1H, d, H-1''', J=1.2 Hz) <sup>13</sup>C NMR ( $\delta$  ppm) 164.50 (C-2), 103.78 (C-3), 182.66 (C-4), 162.16 (C-5), 98.88 (C-6), 163.38 (C-7), 95.51 (C-8), 157.62 (C-9), 106.10 (C-10), 121.64 (C-1'), 129.29 (C-2'), 116.71 (C-3'), 161.90 (C-4'), 116.71 (C-5'), 129.29 (C-6'), 100.10 (C-1''), 77.47 (C-2''), 76.77 (C-3''), 70.50 (C-4''), 77.72 (C-5''), 61.22 (C-6''), 109.42 (C-1'''), 76.42 (C-2'''), 79.95 (C-3'''), 74.67 (C-4'''), 64.90 (C-5''').

Fraksiyonlarda siringin, klorojenik asit ve apigenin varlığı İTK ile saptanmıştır. *n*-BuOH ve MeOH ekstralarında ise klorojenik asit, homoorientin, luteolin-3-*O*-glikozit ve luteolin-4-*O*-glikozit bulunduğu UPSK metodu ile belirlenmiştir.

Daha önce yapılmış olan çalışmalarla, *C. cyanus* tohumlarından, 2 epoksilignan bileşiği berkemol ve larisirezanol-4-*O*- $\beta$ -D-glukopiranozit (27), bir başka çalışmada ise indol alkaloidleri (moşamin, *cis*-moşamin, sentsiyamin ve *cis*-sentsiyamin) izole edilmiştir (20). *C. cyanus*'un toprak üstü kısımlarından kersetin, kemferol, izoramnetin, kersetin-7-*O*- $\beta$ -D-glukozit, izoramnetin-7-*O*- $\beta$ -D-glukozit, kemferol-7-*O*- $\beta$ -D-glukozit, apigenin, luteolin, hispidulin, apigenin-7-*O*- $\beta$ -D-glukozit, apigenin-4'-*O*- $\beta$ -D-glukozit, luteolin-7-*O*- $\beta$ -D-glukozit, apiin, luteolin-7-apioglukozit, kafeik asit, klorojenik asit, neoklorojenik asit ve izoklorojenik asit gibi hidroksisinnamik asitler izole edilerek yapıları aydınlatılmış bulunmaktadır (28). İzoramnetin-7-*O*- $\beta$ -D-glukopiranozit, apiin, apigenin ve klorojenik asit bitkiden daha önce izole edilmiş olmakla birlikte, bu çalışma ile, *C. cyanus*'ta homoorientin, luteolin-3-*O*-glikozit ve luteolin-4-*O*-glikozit varlığı ilk kez ortaya konmuştur.

Asteraceae familyasının Centaureinae subtribusunda yer alan bazı taksonların siringin içeriklerinin araştırıldığı bir çalışmada *C. cyanus*'ta siringin tespit edilemediği belirtilmektedir (29). Yapmış olduğumuz çalışma ile siringin bu taksonda tarafımızdan ilk kez tespit edilmiştir.

İzorarnetin-7-O-β-D-glukopiranozitin antioksidan (30), apiinin östrojenik (31) ve antiinflamatuvar (32), apigeninin ise antioksidan (15), antimikrobiyal (33) antitümöral (34) ve antiinflamatuvar (35) etkilere sahip olduğu yapılan çalışmalarla saptanmıştır. Apigenin, H3N2 influenza virüsü üzerinde yüksek antiviral etkiye sahip bir bileşiktir (36). Siringin ise biyoaktif bir fenilpropanoit bileşik olup, yapılan çalışmalarda, antinosiseptif (37), bağışıklık sistemini düzenleyici (38), antiinflamatuvar (39, 37) ve hipotansif (40) etkilere sahip olduğu belirlenmiştir. Fenolik asitlerden, hidroksisinnamik asit türevi olan klorojenik asit de antioksidan etkisi bilinen bir maddedir (13). *C. cyanus*, tarlalarda yabancı ot olarak geniş yayılış göstermekte ve zirai mücadelesi yapılmaktadır. Çok çeşitli biyoaktif sekonder metabolitler içeren bu türün yeni terapötik ajanların geliştirilmesinde önemli bir kaynak olabileceği düşünülmektedir.

*C. cyanus*, *Centaurea* cinsine ait toplam 15 türün dahil olduğu Cyanus seksiyonuna dahil olan bir taksondur. Bu seksiyonda yer alan diğer *Centaurea* türleri üzerinde az sayıda fitokimyasal çalışma bulunmaktadır: *C. triumfettii*'de apigenin, luteolin, krizoeriol ve bunların bazı 2"-O-konjuge türevleri (41). *C. depressa*'da skutellarein, skutellarin, skutellarein-5-O-β-D-glukuronozit, kersetin, izokersitrin, apigenin ve bir apigenin glikoziti ile luteolin (42-44), *C. reuterana* var. *reuterana*'da ise şaftozit, izoşaftozit, luteolin-7-O-β-D-glukozit, homoorientin ve orientin bulunduğu belirlenmiştir (44). Bu çalışmada izole etmiş olduğumuz apiin ve izoramnetin 7-O-glikozit bileşiklerinin, Cyanus seksiyonu dahilinde sadece *C. cyanus*'tan izole edilmiş olması kemotaksonomik açıdan önemli bir veri olmakla birlikte, bu seksiyonda bulunan diğer taksonlar üzerinde de kapsamlı fitokimyasal çalışmalar yapılmasına gereksinim duyulmaktadır.

#### TEŞEKKÜR

Bu çalışma TUBİTAK (proje no:106S197) ve E.Ü. Araştırma Fon Saymanlığı (proje no: 09ECZ04) tarafından desteklenmiştir. Adı geçen kurumlara teşekkür ederiz.

#### KAYNAKLAR

1. Çelik, S., Rosselli, S., Maggio, A.M., Raccuglia, R.A., Uysal, I., Kisiel, W., Michalska, K. and Bruno, M., "Guaianolides and lignans from the aerial parts of *Centaurea ptosimopappa*" *Biochem. Syst Ecol.* **34**, 349-352 (2006)

2. **Davis, P.H.** Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Vol. 10, Edinburgh University Press, Edinburgh, p. 431-463 (1988)
3. **Wagenitz G.**, “*Centaurea* L.” in Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Davis P.H. (Ed.), vol: 5, Edinburgh University Press, Edinburgh, 465-585 (1975)
4. **Uysal, T.**, “*Centaurea ertugruliana* (Asteraceae), a new species from Turkey” *Ann. Bot. Fennici*, **45**, 135-137 (2008)
5. **Baytop, T.**, Türkiye’de Bitkilerle Tedavi (Geçmişte ve Bugün), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2.baskı, p.316 (1999)
6. **Honda, G., Yesilada, E., Tabata, M., Sezik, E., Fujita, T., Takeda, Y., Takaishi, Y. and Tanaka, T.** “Traditional medicine in Turkey VI. Folk medicine in West Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces” *J Ethnopharmacol*, **68**, 235-241 (1996)
7. **Sezik, E., Yesilada, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y. and Tanaka, T.** “Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in Central Anatolia” *J. Ethnopharmacol*, **75**, 95-115 (2001)
8. **Arif, R., Küpeli, E. and Ergun, F.**, “The biological activity of *Centaurea* L. species” *G. U. J. Science*, **17**, 149-164 (2004)
9. **Karamenderes, C., Khan, S., Tekwani, B.L., Jacob, M.R. and Khan, I.A.**, “Antiprotozoal and antimicrobial activities of *Centaurea* species growing in Turkey” *Pharm. Biol*, **44**, 534-539 (2006)
10. **Buruk, K., Sökmen, A., Aydın, F. and Ertürk, M.** “Antimicrobial activity of some endemic plants growing in the Eastern Black Sea Region Turkey” *Fitoterapia*, **77**, 388-391 (2006)
11. **Karamenderes, C., Konyalıoğlu, S., Khan, S. and Khan, I.A.**, “Total phenolic contents ,free radical scavenging activities and inhibitory effects on the activation of NF-kappa B of eight *Centaurea* L. species” *Phytother. Res*, **21**,488-491(2007)
12. **Negrete, R.E., Backhouse, N., Cajigal, I., Delporte, C., Cassels, B.K., Breitmaier, B. and Eckhardt, G.** “New antiinflammatory elemanolides from *Centaurea chilensis*”, *J. Ethnopharmacol*, **40**, 149-153 (1993)
13. **Yeşilada E., Sezik E., Fujita T., Tanaka S. and Tabata, M.**, “Screening of some Turkish medicinal plants for their anti-ulserogenic activities” *Phytother. Res*, **7**, 263-265 (1993)

14. **Koukoulitsa, E., Skaltsa, H., Karioti, A., Demetzos, C. and Dimas, K.** “Bioactive sesquiterpene lactones from *Centaurea* species and their cytotoxic/cytostatic activity against human cell lines in vitro” *Planta Med*, **68**, 649-652 (2002)
15. **Medjroubi, K., Benayache, F. and Bermejo, J.**, “Sesquiterpene lactones from *Centaurea musimomum*: Antiplasmodial and cytotoxic activities” *Fitoterapia*, **76**, 744-746 (2005)
16. **Karamenderes, C., Bedir, E., Pawar, R., Baykan, S. and Khan, I.A.** “Elemnolide sesquiterpenes and eudesmane sesquiterpene glycosides from *Centaurea hierapolitana*”, *Phytochemistry*, **68**, 609-615 (2007)
17. **Kaij-a Kamb, M., Amaros, M. and Gierre, L.** “Chemistry and biologic activity of the genus *Centaurea*” *Pharm. Acta Helv*, **67**, 178-188 (1992)
18. **Middleton, M., Cox, P.J., Jaspars, M., Kumarasamy, Y., Nahar, L., Reid, R. and Sarker, S.D.** “Dibenzylbutyrolactone lignans and indole alkaloids from the seeds of *Centaurea nigra* (Asteraceae)” *Biochem. Syst. Ecol*, **31**, 653-656 (2003)
19. **Shoeb, M., Macmanus, S.M., Kumarasamy, Y., Jaspars, M., Nahar, L., Thoo-Lin, PK., Nazemiyeh, H. and Sarker, S.D.** “Americanin, a bioactive dibenzylbutyrolactone lignan, from the seeds of *Centaurea americana*” *Phytochemistry*, **67**, 2370-2375 (2006)
20. **Sarker, S.D., Laird, A., Nahar, L., Kumarasamy, Y. and Jaspars, M.**, “Indole alkaloids from the seeds of *Centaurea cyanus* (Asteraceae)” *Phytochemistry*, **57**, 1273-1276 (2001)
21. **Öksüz, S. and Serin, S.**, “Triterpenes of *Centaurea ptosimopappoides*, *Phytochemistry*, **46**, 545-548 (1997)
22. **Karamenderes, C., Demirci, B. and Baser, K.H.C.** “Composition of essential oils of ten *Centaurea* L. taxa from Turkey” *J. Ess. Oil Res*, **20**, 342-349 (2008).
23. **Tesevic, V., Milosavljevic, S., Vajs, V., Janackovic, P. and Popsavin, M.**, “Ditiophenes and other constituents of roots of *Centaurea nicolai*” *Biochem. Syst. Ecol*, **31**, 89-90 (2003)
24. **Sarker, S.D., Dinan, L., Sik, V. and Rees, H.H.**, “Moschatine: An unusual steroidal glycoside from *Centaurea moschata*” *Phytochemistry*, **48**, 1039-1043 (1998)
25. **Takeda, K., Osakabe, A., Saito, S., Furuyama, D., Tomita, A., Kojima, Y., Yamadera, M. and Sakuta, M.**, “Components of protocyanin, a blue pigment from the blue flowers of *Centaurea cyanus*” *Phytochemistry*, **66**, 1607-1613 (2005)



26. **Agrawal, P.K., Thakur, R.S. and Bansal, M.C.**, “Flavonoids” in *Carbon-13 NMR of Flavonoids*, Agrawal P.K. (Ed.), Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, The Netherlands, p. 95 (1989)
27. **Shoeb, M., Jaspars, M., MacManus, S.M., Mjinda, R.R.T. and Sarker, S.D.**, “Epoxy lignans from the seeds of *Centaurea cyanus* (Asteraceae)” *Biochem. Syst. Ecol*, **32**, 1201-1204 (2004)
28. **Litvinenko, V.I. and Bubenchikova, V.N.**, “Phytochemical study of *Centaurea cyanus*” *Khim. Pri. Soedi*, **6**, 792-795 (1988)
29. **Cis, J. Nowak, G. Horoszkiewicz-Hassan, M. and Kisiel, W.**, “Syringin in some species of the subtribe Centaureinae of the Asteraceae” *Acta Soc. Bot. Poloniae*, **72**, 105-107 (2003)
30. **Choi, J.S., Jung, M.J., Park, H.J., Chung, H.Y. and Kang, S.S.**, “Further isolation of peroxy nitrite and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging isorhamnetin 7-O-glucoside from the leaves of *Brassica juncea* L.” *Arch. Pharm. Res*, **25**, 625-662 (2002)
31. **Yoshikawa M., Tuemura, T., Shimoda, H., Kishi, A., Kawahara, Y. and Matsuda, H.**, “Medicinal foodstuffs. XVIII. 1) phytoestrogens from the aerial part of *Petroselinum crispum* MILL. (PARSLEY) and structures of 60-acetylapiin and a new monoterpene glycoside, petroside” *Chem. Pharm. Bull*, **48**, 1039-1044 (2000)
32. **Mencherini, T., Cau, A., Bianco, G., Della Loggia, R., Aquino, RP. and Autore, G.**, “An extract of *Apium graveolens* var. *dulce* leaves: structure of the major constituent, apiin, and its anti-inflammatory properties” *J. Pharm&Pharmacol*, **59**, 891-897 (2007)
33. **Bylka, W., Matlawska, I. and Pilewski, N.A.**, “Natural flavonoids as antimicrobial agents” *JANA* **7**, 24-34 (2004)
34. **Lee, S.H., Ryu, J.K., Lee, K.Y., Woo, S.M., Park, J.K., Yoo, J.W., Kim, Y.T. and Yoon, Y.B.**, “Enhanced anti-tumor effect of combination therapy with gemcitabine and apigenin in pancreatic cancer” *Cancer Lett*, **259**, 39-49 (2008)
35. **Ha, S.K., Lee, P., Park, J.A., Oh, H.R., Lee, S.Y., Park, J.H., Lee, E.H., Ryu, J.H., Lee, K.R. and Kim, S.Y.**, “Apigenin inhibits the production of NO and PGE2 in microglia and inhibits neuronal cell death in a middle cerebral artery occlusion-induced focal ischemia mice model” *Neurochem. Int*, **52**, 878-886 (2008)

36. **Ma, X., Li, Y.F., Gao, Q., Ye, Z.G., Lu, X.J., Wang, H.P., Jiang, H.D., Bruce, I.C. and Xia, Q.**, “Inhibition of superoxide anion-mediated impairment of endothelium by treatment with luteolin and apigenin in rat mesenteric artery” *Life Sci*, **83**, 110-117 (2008)
37. **Choi, J., Shin, K.M., Park, H.J., Jung, H.J., Kim, H.J., Lee, Y.S., Rew, J.H. and Lee, K.T.**, “Anti-inflammatory and antinociceptive effects of sinapyl alcohol and its glucoside syringin, *Planta Med*, **70**, 1027-1032 (2004)
38. **Cho, J.Y., Nam, K.H., Kim, A.R., Park, J., Yoo, E.S., Baik, K.U., Yu, Y.H. and Park, M.H.**, “*In-vitro* and *in-vivo* immunomodulatory effects of syringin” *J. Pharm. Pharmacol*, **53**, 1287-1294 (2001)
39. **Lanza, A.M.D., Martinez, M.J.A., Matellano, L.F., Carretero, C.R., Castillo, L.V., Sen, A.M.S. and Benito, P.B.**, “Lignan and phenylpropanoid glycosides from *Phillyrea latifolia* and their in vitro anti-inflammatory activity” *Planta Med*, **67**, 219-223 (2001)
40. **Ahmad, M. and Aftab, K.**, “Hypotensive action of syringin from *Syringa vulgaris*” *Phytother. Res*, **9**, 452-454 (1995)
41. **Gonnet, J.F.**, “Flavonoid glycoside variation in wild specimens of *Centaurea triumfetti* (Compositae) and comments on its relationships with *Centaurea montana* based on flavonoid fingerprints, *Bio. Syst. Ecol*, **21**, 389-96 (1993)
42. **Bandyukova, V.A. and Khalmatov, Kh.Kh.**, “Isolation of scutellarin from *Centaurea depressa*, *Chem. Nat. Comp*, **3**, 48-9 (1967)
43. **Bandyukova, V.A., Khalmatov, Kh.Kh. and Alimov, Kh.I.** Flavonoids of *Centaurea depressa*, *Chem Nat Comp*, **5**, 274-275 (1972)
44. **Karamenderes, C., Alankuş Çalışkan, Ö., Baykan Erel, Ş. and Karabay Yavaşoğlu, Ü., Avunduk, S.**, “Batı Anadolu’da yayılış gösteren bazı *Centaurea* L. türlerinin biyoaktif sekonder bileşiklerin araştırılması”, TÜBİTAK, 106S197 no’lu araştırma projesi (2009)

Received: 22.06.2010

Accepted: 20.08.2010